

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Фоновой Елизаветы Алексеевны на тему: «Модифицирующий эффект инактивации X-хромосомы на проявление несбалансированных хромосомных вариантов при нарушении репродукции у человека», представленную к официальной защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика

Актуальность выполненного исследования. Инактивация одной из двух X-хромосом у женщин является ключевым событием, направленным на компенсацию дисбаланса генов X-хромосомы между мужским и женским полами. Процесс инактивации X-хромосомы происходит на ранних стадиях эмбрионального развития и представляет собой пример согласованной регуляции экспрессии X-сцепленных генов у обоих полов.

Несимметричная инактивация X-хромосомы (sXCI), при которой происходит предпочтительная инактивация одной из X-хромосом, редко встречается в общей популяции. Однако она может быть связана с различными нарушениями, включая проблемы наступления и вынашивания беременности.

Одной из причин sXCI могут быть изменения числа копий (CNV) на X-хромосоме, патогенные эффекты которых могут привести к формированию патологического фенотипа или нарушению репродуктивных способностей женщины. Известные к настоящему времени единичные исследования по поиску патогенных X-сцепленных CNV у женщин с sXCI не дают возможности в полной мере оценить значение данного явления.

Автором выдвинуто предположение, что асимметричная инактивация X-хромосомы у женщин с невынашиванием беременности и пренатальной гибелью эмбрионов может служить маркером хромосомной патологии плода и позволить сузить выборку для выявления X-сцепленных CNV, которые нарушают нормальный эпигенетический процесс инактивации X-хромосомы, а также вносят вклад в эмбриональную гибель. Установленная причина невынашивания в семье позволит зачать здоровое потомство с использованием вспомогательных репродуктивных технологий и преимплантационного генетического тестирования. Таким образом, проведенное изучение влияния инактивации X-хромосомы при нарушениях репродуктивной функции у женщин безусловно является актуальной задачей медицинской генетики.

Научная новизна исследования заключается в том, что авторами показана повышенная частота смещенной инактивации X-хромосомы среди женщин с невынашиванием беременности по сравнению с контрольной выборкой. Кроме того, впервые установлено, что асимметричная инактивация X-хромосомы у женщин с невынашиванием беременности в 30% случаев сопровождается наличием CNV на X-хромосоме. В ходе проведения исследования впервые проведено исключение первичной инактивации X-хромосомы с использованием таргетного секвенирования генов *XIST* и *XACT*. Впервые выполнено таргетное массовое параллельное секвенирование региона микроделеции Xq24 у женщин-носительниц с sXCI, что

наглядно продемонстрировало неметилированное состояние X-хромосомы дикого типа (без делеции), то есть преимущественную инактивацию именно X-хромосомы с CNV.

Научная и практическая значимость проведенного диссертационного исследования заключается в получении новых научных знаний об эпигенетических механизмах инактивации X-хромосомы при наличии на X-хромосоме у женщин патогенных CNV, которые могут привести к невынашиванию беременности. Стоит отметить, что в работе впервые доказана преимущественная инактивация X-хромосомы с микроделецией региона Xq24 у женщин-носительниц с помощью определения статуса метилирования в регионе мутации, что объясняет бессимптомное носительство микроструктурных хромосомных вариантов и отсутствие клинических проявлений у женщин с невынашиванием беременности. В ходе выполнения исследования разработан алгоритм диагностики X-сцепленных CNV у женщин с невынашиванием беременности. Алгоритм был успешно применен в двух клинических случаях носительства микроделеции Xq24 у женщин. В том числе была проведена пренатальная диагностика у женщины-носительницы микроделеции, по результатам которой было исключено носительство микроделеции у плодов женского пола. Также для женщины-носительницы с привычным невынашиванием была разработана и реализована схема преимплантационного генетического тестирования.

Достоверность полученных результатов и выводов не вызывает сомнений, поскольку диссертационное исследование выполнено на репрезентативной выборке, с применением современных высокоразрешающих молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических методов исследования с верификацией и статистической обработкой полученных данных.

Оценка содержания научного исследования.

Представленная к защите диссертационная работа изложена на 137 страницах машинописного текста, содержит 22 рисунка и 13 таблиц. Работа построена по традиционному плану и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, глава материалов и методов исследования, глава результатов и обсуждения, выводы, список литературы, приложение. Список использованной литературы включает 177 источников, из которых 18 – отечественных и 159 – зарубежных.

Во **Введении** автор обосновывает актуальность поставленной цели исследования, аргументирует необходимость дополнительного изучения случаев хромосомных микроструктурных перестроек у женщин с sXCI. В разделе изложены методология исследования и положения, выносимые на защиту, отобрано личное участие автора в проведении научного исследования.

В главе «**Обзор литературы**» представлено современное понимание хромосомных мутаций как одного из факторов, влияющих на развитие эмбриона и его преждевременную гибель. В данном разделе подробно рассматривается процесс инактивации X-хромосомы как эпигенетического явления у человека. На основе данных литературы автор обсуждает вопрос влияния микроструктурных изменений

при различных уровнях инактивации X-хромосомы, включая рассмотрение этого феномена как потенциального патогенетического маркера CNV. Особое внимание уделяется проблемам причин невынашивания, а также обсуждению участия как возникших *de novo*, так и унаследованных микроструктурных изменений на X-хромосоме в гибели эмбриона.

Глава «Материалы и методы» включает в себя описание дизайна и задач исследования, соответствующих им материалов и методов, использованных в проведенной научно-исследовательской работе. Описание методов приведено в полном объеме и является достаточным для понимания их обоснованного применения в соответствии с выполняемыми задачами.

Глава «Результаты и обсуждение» включает несколько разделов в соответствии с поставленными задачами диссертационного исследования. В данной главе представлены результаты анализа характера инактивации X-хромосомы у женщин с невынашиванием беременности и у спонтанных абортусов; проведена идентификация патогенных вариантов в генах *XIST* и *XACT* с использованием целевого секвенирования нового поколения; представлены результаты поиска вариаций числа копий ДНК у женщин и спонтанных абортусов с sXCI и последующий анализ патогенетически значимых CNV в контрольной выборке женщин без проблем с репродукцией; определен статус инактивации X-хромосомы с несбалансированными хромосомными мутациями у женщин-носительниц и у спонтанных абортусов. На основе полученных данных предложен алгоритм диагностики микроструктурных перестроек, направленный на оптимизацию обследования женщин с невынашиванием беременности.

В разделе «Заключение» подведены основные итоги исследования, в том числе о вкладе асимметричной инактивации X-хромосомы в проявление несбалансированных хромосомных перестроек у женщин-носительниц.

Выводы в полной мере отражают все полученные в ходе выполнения результаты диссертационной работы.

По содержанию и оформлению диссертации принципиальных замечаний нет.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации оформлен в соответствии с требованиями, полностью отражает основные положения диссертации, включая актуальность исследования, научную новизну, материалы и методы исследования, результаты диссертационной работы, их обсуждение и выводы.

Результаты исследования были представлены на различных научных конференциях, в том числе международных, и опубликованы в рецензируемых научных изданиях, соответствующих критериям ВАК РФ для публикации квалификационных диссертационных работ на соискание ученых степеней.

Заключение. Диссертационная работа Фоновой Елизаветы Алексеевны на тему: «Модифицирующий эффект инактивации X-хромосомы на проявление несбалансированных хромосомных вариантов при нарушении репродукции у человека» является законченной научно-квалификационной работой, в которой

решена актуальная научно-практическая задача по изучению роли фенотипа инактивации X-хромосомы при невынашивании беременности.

Диссертационная работа Фоновой Елизаветы Алексеевны полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 25.01.2024 г. № 62), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Фонова Е.А. заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Согласна на сбор, обработку, хранение и передачу моих персональных данных в работе диссертационного совета 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук».

Официальный оппонент

Заведующая кафедрой медицинской генетики
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения дополнительного профессионального образования
"Российская медицинская академия непрерывного профессионального
образования" Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор медицинских наук, доцент



Демикова Наталья Сергеевна

08.05.2024

Личную подпись Демиковой Натальи Сергеевны заверяю.

Ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения дополнительного профессионального образования
"Российская медицинская академия непрерывного профессионального
образования" Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор



Чеботарева Татьяна Александровна

Сведения об учреждении, где работает оппонент:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Министерства здравоохранения Российской Федерации;
Почтовый индекс: 125993 Адрес: г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1
Сайт института: <https://rmapo.ru/>
e-mail института: rmapo@rmapo.ru
тел. +7 (495) 680-05-99
e-mail оппонента: ns_d@rambler.ru