



Министерство здравоохранения Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
"Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова"
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России)
Адрес: Санкт-Петербург, 191015, ул.Кирочная, д.41
ОКПО 30625447, ОКАТО 40298564000, ОГРН 1117847434990, ИНН 7842461679,
КПП 784201001, ОКВЭД 85.22; 86; 72.19; 84.21
Единая телефонная справочная: (812) 303-50-00, факс: (812) 303-50-35,
e-mail: rectorat@szgmu.ru
www.szgmu.ru

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по науке
и инновационной деятельности
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Северо-Западный государственный
медицинский университет имени И.И.
Мечникова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации
доктор медицинских наук, доцент



Н.В. Бакулина

2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Фоновой Елизаветы Алексеевны на тему: «Модифицирующий эффект инактивации X-хромосомы на проявление несбалансированных хромосомных вариантов при нарушении репродукции у человека», представленной к официальной защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7 Генетика.

Актуальность темы диссертационной работы

Инактивация X-хромосомы у женщин – процесс, необходимый для компенсации дозы X-сцепленных генов. Инактивация происходит в раннем эмбриогенезе и в норме имеет равновероятный характер. Асимметричная инактивация X-хромосомы, когда преимущественно инактивируется одна из родительских хромосом, редко встречается в общей популяции, но бывает ассоциирована с различными заболеваниями и отклонениями

развития (умственная отсталость, аутизм, синдром Барта), в том числе и с невынашиванием беременности.

В последнее время инактивация X-хромосомы является объектом пристального изучения как нормальный эпигенетический процесс, так и как один из факторов, приводящий к картине неполной пенетрантности генетических нарушений. Одной из причин формирования асимметричной инактивации могут быть изменения в числе копий хромосомных регионов или CNV, которые могут привести к клиническим последствиям для здоровья или репродуктивных способностей женщины. Однако исследования по поиску патогенных X-сцепленных CNV, которые могут быть компенсированы у женщин-носительниц вследствие преимущественной инактивации X-хромосомы с CNV, единичны.

Автором диссертации выдвинуто предположение, что анализ характера инактивации X-хромосомы у женщин с невынашиванием беременности и пренатально погибших эмбрионов может позволить сузить выборку для выявления X-сцепленных CNV, которые нарушают нормальный эпигенетический процесс инактивации X-хромосомы, а также вносят вклад в эмбриональную гибель. Установление причины невынашивания, связанное с носительством CNV на X-хромосоме, открывает перспективы родить здорового ребенка с использованием вспомогательных репродуктивных технологий и преимплантационного генетического тестирования.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

В рамках диссертации Фоновой Е.А. впервые показано, что смещение инактивации X-хромосомы статистически значимо чаще регистрируется среди женщин с невынашиванием беременности, чем у женщин без проблем с репродукцией. В рамках работы впервые установлено, что асимметричная инактивация X-хромосомы у женщин с невынашиванием беременности в анамнезе в 30% случаев сопровождается наличием CNV на X-хромосоме.

Впервые проведено таргетное секвенирование генов *XIST* и *XACT*, что позволило исключить эффект первичного нарушения инактивации X-хромосомы. Выполнено таргетное бисульфитное массовое параллельное секвенирование региона микроделеции Xq24 у женщин-носительниц с асимметричной инактивацией, впервые экспериментально доказавшее неметилированное состояние гомолога X-хромосомы дикого типа (без делеции).

Показано, что проведение молекулярно-генетической диагностики с целью определения уровня инактивации X-хромосомы может быть

дополнительным скрининговым методом для профилактики нарушений репродукции и наследственных заболеваний, в том числе на уровне прееонцепционной и пренатальной диагностики, что позволит обеспечить качественное медико-генетическое консультирование семей.

Значимость полученных результатов для медицинской науки и практики

Теоретическая значимость результатов исследования заключается в получении новых фундаментальных данных о реализации эпигенетических механизмов инактивации X-хромосомы при наличии патогенных микроструктурных хромосомных перестроек на X-хромосоме у женщин, которые могут привести к невынашиванию беременности. Впервые экспериментально доказана преимущественная инактивация X-хромосомы с микроделецией региона Xq24, ассоциированного с X-сцепленной умственной отсталостью по типу Насименто, у женщин-носительниц с помощью определения статуса метилирования в регионе мутации, что объясняет бессимптомное носительство микроструктурных хромосомных вариантов и отсутствие клинических проявлений.

Практическая значимость работы несомненно высока и связана с разработкой нового алгоритма диагностики X-сцепленных CNV у женщин с невынашиванием беременности. Алгоритм успешно применен в двух клинических случаях диагностики микроделеции Xq24. В одной семье была проведена пренатальная диагностика у женщины-носительницы микроделеции, по результатам которой исключено носительство микроделеции у плодов женского пола. Во второй семье для женщины-носительницы с привычным невынашиванием беременности была разработана и реализована схема преимплантационного генетического тестирования микроструктурной хромосомной перестройки.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, практических рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работу отличает четкий и структурированный дизайн исследования, высокий методологический уровень выполнения поставленных задач, полученные результаты соответствуют поставленной цели, предоставленные результаты приведены в полном объеме. Применен широкий спектр современных методов исследования, включая хромосомный микроматричный анализ и секвенирования следующего поколения. Выводы и положения, выносимые на защиту, полностью обоснованы и базируются на статистически достоверных результатах. Результаты работы представлены на всероссийских и международных конференциях, а также опубликованы в виде 13 научных работ, в том числе

опубликовано 6 статей в журналах, входящих в перечень рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, из них 3 статьи в журналах, реферируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Содержание диссертационной работы и ее оформление

Полный объем диссертационной работы Фоновой Е.А. составляет 137 страниц. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, выводов, списка литературы, 1 приложения. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 13 таблицами. Библиографический указатель включает 177 литературных источников.

Во «Введении» автором подробно изложены основные данные, которые обосновывают актуальность проведения исследования и позволяют судить о научном задании в данном направлении, представлены цель и задачи работы, а также новизна, теоретическая и практическая значимость, изложена методология исследования и положения, выносимые на защиту, отображено личное участие автора.

Глава «Обзор литературы» отображает современное представление о хромосомных мутациях как этиологическом факторе нарушения эмбрионального развития и ранней эмбриональной гибели. Подробно описан механизм инактивации X-хромосомы как эпигенетического явления в организме у человека. Автором отдельно раскрыта проблематика наличия микроструктурных перестроек при различных степенях инактивации X-хромосомы. В том числе, автором поднят вопрос рассмотрения феномена инактивации X-хромосомы как критерия патогенности CNV. Особое внимание уделено проблематике невынашивания беременности и эмбриолетальности, в том числе выдвинуто предположение, что микроструктурные перестройки на X-хромосоме, возникшие *de novo* либо унаследованные от матери, вносят определенный вклад в этиологию ранней эмбриональной гибели.

Глава «Материалы и методы» включает в себя дизайн исследования, подробное описание задач и соответствующих им материалов и методов исследования. Описание методов приведено в полном объеме и является достаточным для понимания их сущности с точки зрения обоснованности выбора в соответствии с выполняемыми задачами.

В главе «Результаты и обсуждение» представлены результаты и их последовательное обсуждение, которое разделено автором на подглавы в соответствии с дизайном исследования, а именно: проанализирован 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; проведен поиск вариаций числа копий хромосомных регионов у женщин и спонтанных абортусов с асимметричной инактивацией X-хромосомы 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.

В «Заключении» подведены основные итоги исследования, в том числе сформулированы ключевые современные представления о вкладе асимметричной инактивации X-хромосомы в проявление несбалансированных хромосомных перестроек у женщин-носительниц.

Внедрение основных результатов исследования и конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

По результатам диссертационной работы разработан алгоритм диагностики несбалансированных микроструктурных перестроек на X-хромосоме и анализа характера X-инактивации у женщин с невынашиванием беременности. Алгоритм апробирован при проведении пренатальной диагностики и преимплантационного генетического тестирования в семьях с нарушением репродукции.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В качестве дискуссии хотелось бы узнать мнение диссертанта по следующим вопросам:

1. Существуют ли различия клинических проявлений в зависимости от родительского происхождения преимущественно инактивированной хромосомы X?
2. Известно, что при ряде X-сцепленных рецессивных заболеваниях (болезнь Фабри и др.) клинические проявления у женщин могут быть связаны с неслучайной инактивацией хромосомы X. Можно ли в семье, имеющей девочку с клиническими проявлениями болезни Фабри, использовать определение молекулярных маркеров неслучайной инактивации хромосомы X для пренатальной диагностики?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Фоновой Елизаветы Алексеевны на тему: «Модифицирующий эффект инактивации X-хромосомы на проявление несбалансированных хромосомных вариантов при нарушении репродукции у человека», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7 Генетика, является завершенной

научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований решена актуальная научная задача, имеющая существенное значение для медицинской генетики – установление модифицирующей роли инактивации X-хромосомы в проявлении хромосомного дисбаланса при невынашивании беременности и нарушении эмбрионального развития человека.

По своей актуальности, новизне, объему выполненных исследований, глубине анализа полученных данных и их доказательности, научной и практической ценности выводов и практических рекомендаций, диссертация полностью соответствует требованиям Положения «О присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры медицинской генетики ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, протокол №4 от «12» апреля 2024 года.

Профессор кафедры медицинской генетики
ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России
Доктор медицинских наук, профессор
Ларионова Валентина Ильинична




Сведения о ведущей организации:

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Северо-Западный государственный
медицинский университет имени И.И. Мечникова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России)
191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41
+7(812) 303-50-00, +7(812) 303-50-35
e-mail: rectorat@szgmu.ru
www.szgmu.ru