

ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора
Петрина Александра Николаевича**

на диссертацию Балашовой Марии Сергеевны «Оценка спектра мутаций гена *ATP7B* и клинического полиморфизма болезни Вильсона-Коновалова», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.07 – генетика (медицинские науки), 14.01.04 – внутренние болезни

Актуальность темы исследования

Болезнь Вильсона-Коновалова (БВК) является наследственным заболеванием с аутосомно-рецессивным типом наследования. Патогенез БВК связан с нарушением выведения меди из организма вследствие мутаций гена *ATP7B*, кодирующего медный транспортер АТФ-азу 7В. Симптоматика БВК крайне разнообразна: помимо типичных гепатологических и неврологических проявлений может присутствовать поражение и других органов и систем. Для БВК разработана патогенетическая терапия, залогом эффективности которой является ранняя постановка диагноза и начало лечения. Распространенность БВК по данным литературы составляет около 1:30000, однако последние исследования говорят о более высокой распространенности (1:7000-17000), что может быть связано с генетическими особенностями обследованных популяций, а также с улучшением диагностики заболевания. К настоящему времени идентифицировано большое количество патогенных мутаций гена *ATP7B*, при этом спектр и частота определенных мутаций значительно варьирует от выборки к выборке, от популяции к популяции. Определение специфического спектра частых мутаций гена *ATP7B*, характерных для российских больных, играет важную роль в ранней диагностике БВК.

В работе Балашовой М.С. проведена оценка спектра мутаций гена *ATP7B* и представлено описание клинического полиморфизма БВК у пациентов преимущественно с абдоминальной и смешанной формами

заболевания. Кроме того, предпринята попытка выявления связи между особенностями генотипов и особенностями клинической картины при БВК. Таким образом, представленное к защите диссертационное исследование посвящено решению актуальных проблем медицинской генетики и внутренних болезней как с теоретической, так и с практической точки зрения.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

Основные положения, выносимые на защиту, а также выводы и практические рекомендации, приведенные в диссертационной работе Балашовой М.С., охватывают все стороны проведенного исследования, соответствуют выбранной теме, цели исследования и поставленным задачам. Содержательный анализ информации, представленной в подробном обзоре литературных источников, подтверждает актуальность выбранной темы. Структура и объем клинического материала, а также использованные методы исследования, адекватны и соответствуют поставленной цели и задачам диссертации. Работа иллюстрирована достаточным количеством наглядных рисунков, таблиц и диаграмм. Основные положения диссертационной работы доложены на 5 российских и 2 зарубежных конференциях. По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 3 статьи – в журналах из перечня ВАК РФ и 1 статья в зарубежном журнале, что подтверждает обоснованность научных положений и выводов работы.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

В работе Балашовой М.С. впервые проведено комплексное исследование группы российских пациентов с БВК, включающее поиск мутаций в гене *ATP7B* с помощью метода NGS и анализ клинических данных. Количество обследованных (81 пациент с БВК и 10 родственников 1-й степени родства) представляется достаточным для получения достоверных данных. Кроме того, оценена частота носительства мутаций в гене *ATP7B* в группе здоровых людей (178 человек), которая составила 1:89, и охарактеризован

спектр непатогенных вариантов в гене *ATP7B* как среди больных, так и в группе контроля.

При анализе генотипов больных была идентифицирована 31 мутация гена *ATP7B*, из них 3 описаны впервые (с.1870-8A>G, с.1971dupC, с.3036dupC). Наиболее часто встречалась мутация с.3207C>A (p.His1069Gln) (51,85% аллелей), на втором месте по частоте - с.3190G>A (p.Glu1064Lys) (8,64% аллелей), на третьем месте - с.3402delC (p.Ala1135fs) (6,17% аллелей). Важно заметить, что мутация с.3190G>A (p.Glu1064Lys) не была ранее описана как мажорная для российского населения и отсутствует в панелях на частые мутации, применяющихся в настоящее время в РФ. NGS позволил выявить мутации на 96% аллелей. Достоверность полученных результатов и сделанных выводов сомнений не вызывает.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Полученные результаты проведенного исследования свидетельствуют об высокой эффективности применения таргетного NGS для ранней диагностики БВК. Новые данные по спектру мутаций позволяют рекомендовать мутацию с.3190G>A (p.Glu1064Lys) для включения в панели на частые мутации в молекулярно-генетических лабораториях. Использование современных молекулярно-генетических методов позволяет своевременно диагностировать БВК и назначить медьэлиминирующую терапию, что способствует улучшению прогноза для пациентов с БВК.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Полученные сведения о спектре мутаций гена *ATP7B* и частоте бессимптомного носительства могут быть использованы для медико-генетического консультирования семей больных с различными формами БВК. Несомненна необходимость проведения семейного генетического скрининга на мутации гена *ATP7B* у сибсов пациентов с БВК.

Оценка содержания диссертации в целом

Диссертация изложена на 135 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографии, списка использованных сокращений и приложения. Текст иллюстрирован 21 таблицей и 17 рисунками. Работа характеризуется четкостью изложения и хорошо структурирована.

Во введении автор обосновывает актуальность проблемы, определяет цель и задачи работы, формулирует ее научную новизну и практическую значимость.

В обзоре литературы отражены современные представления об этиологии и патогенезе БВК. Хорошо освещены генетические особенности заболевания, включая значительные популяционные различия в спектре мутаций гена *ATP7B*. Продемонстрирован выраженный полиморфизм клинических проявлений БВК, в том числе внепеченочных. Необходимо отметить, что автор глубоко проанализировал как зарубежную, так и отечественную литературу, посвященную теме диссертации.

В главе «Материалы и методы исследования» автор описывает принципы включения в основную и контрольную группу исследования. Также представлено описание использованных методов обследования, в том числе молекулярно-генетических. Последние включают в себя таргетное NGS, на платформе MiSeq Sequencing System (Illumina), а также полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и ПЦР-ПДРФ анализ для подтверждения наиболее частых мутаций, выявленных при NGS. Для обработки полученных данных диссертантом применены адекватные методы статистического анализа.

В третьей главе приведены результаты собственных исследований, отражающие спектр выявленных вариантов в гене *ATP7B* и особенности клинической картины обследованных пациентов с БВК. Полученные

результаты однозначно свидетельствуют о значительной гетерогенности выявленных мутаций и широком разнообразии клинических проявлений заболевания. Также показано, что в значительной части случаев имело место запаздывание диагностики БВК. Приведен ряд клинических наблюдений, демонстрирующих сочетание БВК с другими моногенными состояниями, а также случаи БВК со стертым течением и недостаточностью клинических данных для подтверждения диагноза на ранних этапах болезни.

В обсуждении полученные результаты анализируются и критически сравниваются с данными других авторов. В заключении подводится лаконичный итог проделанной работе. Выводы и практические рекомендации вытекают из материалов и результатов исследования и объективны по своей сути. Автореферат диссертационной работы соответствует основным ее положениям и в полной мере отражает ее содержание, выполнен в соответствии с требованиями ВАК РФ.

Принципиальных замечаний по содержанию, оформлению, качеству исследований и выводам нет.

Заключение

Диссертация Балашовой М.С. «Оценка спектра мутаций гена АТР7В и клинического полиморфизма болезни Вильсона-Коновалова» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук профессора А.Ю. Асанова и доктора медицинских наук Т.М. Игнатовой, содержащей новое решение актуальной задачи по изучению генетических и клинических особенностей БВК у российских пациентов, имеющей существенное значение для медицинской генетики и внутренних болезней. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Балашовой Марии Сергеевны соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении

ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации № 335 от 21.04.2016 г., № 748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации заслуживает присуждения учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 03.02.07 – генетика, 14.01.04 - внутренние болезни.

Профессор кафедры медицинской генетики
ФГБОУ ВО «Московский государственный
медико-стоматологический университет имени
А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, доктор медицинских наук,
профессор



Петрин Александр Николаевич

05.04.2019 г.

127473, Москва, ул. Делегатская, д.20, стр. 1
Тел. 8 (495) 609-67-00

Подлинность подписи профессора А.Н. Петрина заверяю.

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Заслуженный врач России, доктор медицинских наук, профессор



Васюк Юрий Александрович