

Отзыв

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора

Винницкой Елены Владимировны

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) представляет собой аутосомно-рецессивное генетическое заболевание, которое включено в число орфанных заболеваний. БВК возникает из-за накопления меди в различных органах и тканях, в первую очередь печени и головном мозге. Этиологически патология обусловлена мутациями гена *ATP7B*, что ведет за собой нарушение функции АТФ-азы 7В, транспортирующей медь из гепатоцитов в желчные протоки. Для БВК характерна широкая вариабельность клинических проявлений, и зачастую патология протекает под маской других заболеваний. БВК обычно манифестирует в 15-25 лет, и без своевременной диагностики и лечения приводит к инвалидизации и гибели пациента. По данным литературы, в структуре циррозов печени детского и молодого возраста БВК обуславливает до 10% случаев. Таким образом, поражается молодое трудоспособное население, что свидетельствует об актуальности изучения методов раннего выявления БВК. Одним из методов ранней диагностики БВК является генетическое тестирование. Однако, для БВК описано большое количество мутаций, и спектр мутаций уникален в различных странах. При проведении стандартного анализа на частые мутации в существенной части случаев не удается подтвердить генетически заболевание у пациента. Это подтверждает необходимость более подробного изучения спектра мутаций в российской популяции, особенно учитывая то, что проводившиеся ранее исследования

генетики БВК в нашей стране немногочисленны, и в основном полагались на анализ только частых мутаций, но не секвенирования гена *ATP7B*.

Все изложенное определяет актуальность данного диссертационного исследования, направленного на изучения спектра мутаций и разнообразия клинических проявлений при БВК.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертационной работе Балашовой М.С., обусловлена адекватно четко сформулированной целью и задачами исследования, использованием современных молекулярно-генетических (секвенирование следующего поколения, NGS), статистических и клинических методов исследования.

В работе получены значимые результаты, на основании которых сформированы выводы и даны практические рекомендации.

По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 3 полнотекстовых статьи в журналах из перечня ВАК РФ и 1 статья в зарубежном журнале. Результаты и основные положения диссертационной работы доложены на 5 российских и 2 зарубежных конференциях. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертации.

Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций

Балашова М.С. эффективно использует теоретические и методологические положения, сформулированные в современных исследованиях отечественных и зарубежных ученых. Выбранные автором материалы и методы исследования адекватны сформулированным задачам работы.

Все содержащиеся в работе рекомендации, выводы и положения подтверждены достоверными данными генетического и клинического обследования основной группы (81 пациент с БВК и 10 их ближайших родственников) и контрольной группы (178 здоровых человек). В работе Балашовой М.С. впервые анализируются клинические особенности БВК в совокупности с данными секвенирования гена *ATP7B*, полученными методом NGS. Мажорная мутация с.3207C>A (p.His1069Gln) была выявлена на 51,85% хромосом. Второй наиболее частой мутацией оказалась с.3190G>A (p.Glu1064Lys), обнаруженная на 8,64% хромосом. Выявлено 3 ранее не описанные вероятно патогенные мутации. В контрольной группе частота носительства мажорной мутации составила 1:89, других мутаций не было обнаружено. Представлена подробная клиническая характеристика обследованной группы пациентов. Показано, что у значительной доли (24,12%) пациентов на момент манифестации БВК клинические проявления были стертыми, и использование для них диагностической Лейпцигской шкале было малоэффективно. У 2/3 пациентов наблюдалось запаздывание постановки диагноза, у 38% этот период занял более года. Автором предложены рекомендации по назначению молекулярно-генетического тестирования всем пациентам с неуточненным поражением печени для своевременного выявления БВК, а также генетическое обследование родственников пациента с установленным диагнозом БВК.

Достоверность полученных результатов и сделанных выводов сомнений не вызывает.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Практическая значимость работы обусловлена сложностью своевременного установления диагноза БВК. У пациентов часто присутствуют не все типичные признаки заболевания. Для ранней диагностики и начала патогенетической терапии эффективно применение таргетного NGS, в результате которого возможно обнаружить до 96%

мутаций, являющихся причиной БВК. Использование семейного генетического скрининга в семьях пациентов с БВК позволяет обнаружить заболевание на доклинической стадии у сибсов пробанда, а также выявить возможное носительство мутации у супруга/супруги пробанда и определить прогноз для деторождения.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа Балашовой М.С. изложена на 135 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану и состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Балашова М.С. наглядно проиллюстрировала текст диссертационной работы большим количеством информативных таблиц и рисунков, дополняющих содержание диссертации.

В разделе «введение» автор раскрывает актуальность изучаемой проблемы, ясно и четко формулирует цель, задачи и основные положения диссертации, определяет новизну и практическую значимость полученных результатов.

В обзоре литературы проанализировано значительное количество научных статей, а также Интернет-ресурсов – всего 212 источников, из которых 184 работы зарубежных авторов. Обзор литературы освещает особенности БВК на разных уровнях организации организма: от молекулярно-генетической причины заболевания и специфики метаболизма меди до разнообразия клинической картины. Рассматривается неоднозначный вопрос о связи клинических проявлений с определенным генотипом.

В главе «Материалы и методы» автор приводит характеристику изучаемых групп, представляет использованные в работе методы.

Глава «результаты исследования» содержит несколько подразделов. Анализируется спектр и частота выявленных мутаций в гене *ATP7B*, а также непатогенных вариантов. Дана общая и клиническая характеристика основной и контрольной группы. Детально рассмотрены вопросы применения диагностической Лейпцигской балльной шкалы и ее низкой эффективности на ранних этапах заболевания и в отсутствии результатов генетического тестирования. Приведен ряд клинических наблюдений, наглядно демонстрирующих полиморфизм клинических проявлений, трудность установления диагноза БВК, а также уникальные случаи сочетания БВК с другой моногенной патологией. В заключение произведена попытка установить связь между определенным генотипом и особенностями клинических проявлений БВК, однако данное исследование показало недостаточность объема выборки для получения статистически достоверной информации о генотип-фенотип корреляции.

Замечаний принципиального характера к работе нет. Отмечены отдельные стилистические погрешности и опечатки, в том числе ошибка в выводе №4. Рекомендуется исправить процентное соотношение в соответствии с представленным в разделе диссертации 3.6 «Клиническая характеристика основной группы». Указанные недостатки не снижают качества и общей положительной оценки работы

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Балашовой М.С. «Оценка спектра мутаций гена *ATP7B* и клинического полиморфизма болезни Вильсона-Коновалова» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной под руководством доктора медицинских наук, профессора А.Ю. Асанова, доктора медицинских наук Т.М. Игнатовой, содержащей новое решение актуальной научной задачи – изучение

