

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук

Жученко Людмилы Александровны

на диссертацию Поляк Маргариты Евгеньевны «Клинико-генетический полиморфизм синдрома некомпактного миокарда левого желудочка у российских больных», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность темы диссертационного исследования

Изучение синдрома некомпактного миокарда левого желудочка (СНМЛЖ), редкой формы кардиомиопатий с патологической гипертрабекулярностью миокарда левого желудочка и формированием двух слоев миокарда – нормального и некомпактного сегодня представляет большой научно-практический интерес. Включенный ВОЗ в 1995 году в группу неклассифицированных кардиомиопатий, и аналогично классифицируемый Европейским обществом кардиологов, а в США определяемый как генетически детерминированная кардиомиопатия, СНМЛЖ имеет распространенность во взрослой популяции от 0,014%. Патология может быть изолированной, сочетаться с врожденными пороками сердца и другими генетически детерминированными состояниями, клинически может сопровождаться нарушением сократительной способности сердечной мышцы, аритмией, гипертрофией миокарда и дилатацией камер сердца.

Несмотря на прогресс, достигнутый в визуализации и морфологическом описании феномена некомпактного миокарда, отсутствует единое понимание его этиологии и патогенеза. Многочисленные исследования отмечают, как доказанно значимую долю наследственных форм (до 50% при аутосомно-доминантном и сцепленным с X-хромосомой типе наследования), так и отсутствие «мажорного» гена, генетические варианты в котором были бы ответственны за большую часть семейных случаев. При наличии запроса на ДНК-диагностику со стороны семей, объем и тактика генотипирования у пробандов и их родственников в настоящее

время дискутабельны. Согласно Консенсусу HRS/EHRA (2011г.) по генетическому тестированию для каналопатий и кардиомиопатий, генетический анализ при СНМЛЖ должен включать гены, мутации в каждом из которых встречаются $\geq 2\%$ случаев, а именно, гены: *MYBPC3*, *MYH7*, *TAZ*, *LDB3*, *ACTC1*, *TNNT2*. В наиболее актуальных рекомендациях по генетическому тестированию для кардиомиопатий (Общество сердечной недостаточности HRS от 2018 года) указано, что объем ДНК-диагностики для пациентов с сочетанием СНМЛЖ и другой кардиопатии (ГКМП, ДКМП, РКМП) должен определяться кардиологическим фенотипом, в сочетании с которым наблюдается феномен некомпактности миокарда, для пациентов с изолированным некомпактным миокардом целесообразность ДНК-диагностики рекомендуется оценить после тщательного сбора семейного анамнеза. Учитывая перекрывающиеся генетические спектры различных кардиопатий, поиск мутаций в генах саркомерных и структурных белков с определением их значимости для клинического течения заболевания и прогноза является современной темой в эру молекулярной генетики.

В связи с этим, актуальность темы диссертационной работы Поляк Маргариты Евгеньевны, посвященной анализу клинико-генетического полиморфизма синдрома некомпактного миокарда, не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

В диссертационном исследовании использован комплексный подход к решению поставленных задач с использованием современных, апробированных в научной практике методов исследования, включая высокопроизводительное секвенирование нового поколения (NGS) на платформе Ion Torrent с последующим анализом таргетных участков генов методом прямого двунаправленного секвенирования по Сенгеру, являющемуся «золотым стандартом» ДНК-диагностики. Проведены анализ результатов функциональной диагностики, таких как эхокардиография, МРТ или МСКТ сердца, оценка родословной.

Результаты исследования генетического спектра были сопоставлены автором с литературными данными: с результатами изучения генетического спектра НМЛЖ в четырех исследованиях. Достоверные отличия (точный тест Фишера, $p < 0,05$) в структуре генетического спектра НМЛЖ отмечены с результатами, показанными в исследовании Li et al. (2018), что автор объясняет различным дизайном исследования, а именно, включением Li et al. гена титина в спектр исследуемых генов.

Результаты исследования обоснованы автором расчетами и выявленными закономерностями, что позволяет оценить и принять сформулированные научные положения, полученные выводы и предложенные на их основе практические рекомендации, в том числе включающие алгоритмы медико-генетического консультирования для пациентов с СНМЛЖ. Сформулированные автором выводы соответствуют заявленной специальности, практические рекомендации при различных типах ремоделирования миокарда адекватны клиническим задачам, решаемым врачами генетиками и кардиологами для пациентов с СНМЛЖ и для их родственников.

Результаты диссертационной работы опубликованы в рецензируемых журналах ВАК и зарубежной печати: 3 статьи - в «Российском кардиологическом журнале», 2 статьи – в журнале «Клиническая и экспериментальная хирургия», 1 статья – в журнале «Gene», представлены в виде устных и постерных докладов на российских и зарубежных научных конференциях.

Результаты исследования были внедрены в практику медико-генетического консультирования лаборатории медицинской генетики и в лекционный курс для студентов и ординаторов ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», а также в практическую деятельность лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.И.Бочкова».

Достоверность и новизна научных положений диссертации, выводов и рекомендаций.

В диссертационной работе Поляк М.Е. при анализе клинических особенностей и генетического полиморфизма синдрома некомпактного миокарда левого желудочка рассмотрены и учтены различные варианты ремоделирования миокарда (изолированная некомпактность миокарда левого желудочка, сочетание некомпактности миокарда с гипертрофией стенок камер сердца и сочетание некомпактности миокарда с дилатацией камер сердца), а также группа пациентов с некомпактным миокардом левого желудочка. Изучен спектр генетических вариантов в 13 генах саркомерных и структурных белков у пациентов с СНМЛЖ. Панель из 13 генов была составлена на основе рекомендаций HRS/EHRA по генетическому тестированию для каналопатий и кардиомиопатий от 2011 года, дополнена генами структурных белков, генетические варианты в которых были описаны при СНМЛЖ, и частично соответствует рекомендациям Американского общества сердечной недостаточности.

Автором отмечено, что в хорошо изученных генах саркомерных и структурных белков было обнаружено большое количество неописанных ранее генетических вариантов и вариантов с неустановленным клиническим значением. Так, из 15 генетических вариантов, выявленных в гене *MYH7*, 6 были описаны впервые, а доля пробандов, у которых были выявлены генетические варианты с неустановленным клиническим значением, составила 30%. Большая доля генетических вариантов с неустановленным клиническим значением нашла отражение в соотношении «сигнал-шум», которое составило ~ 0,65:1. В руководствах от 2011 и 2018 гг. оценка соотношения «сигнал-шум» для результатов генетического исследования у пациентов с СНМЛЖ не проводилась.

При анализе корреляций «генотип-фенотип» показано, что возраст манифестации заболевания у носителей патогенных/вероятно патогенных вариантов достоверно ниже ($p=0,0017$), чем у пациентов без выявленных

генетических вариантов. Отмечалось также, что семейный анамнез внезапной сердечной смерти у пациентов с патогенными/вероятно патогенными вариантами встречался достоверно чаще ($p=0,03$), чем у пациентов без выявленных генетических вариантов. Более ранний возраст манифестации был показан в работе Wang et al. (2017), однако в той же работе не было выявлено корреляций с отягощенным семейным анамнезом.

Автором впервые проведена оценка соотношения толщины некомпактного и компактного слоев (NC/C) миокарда у разных групп пациентов. Показано, что соотношение NC/C у пациентов с выявленными патогенными/вероятно патогенными генетическими вариантами было достоверно ниже, чем у пациентов без выявленных генетических вариантов.

Автору не удалось выявить особенности, характерные для обнаруженного спектра генетических вариантов, однако, как было отмечено ранее, были обнаружены и описаны новые генетические варианты. Необходимо отметить, что работа проведена на небольшой группе пациентов (67 больных). Из-за относительно небольшого количества пациентов подгруппы пациентов с различными вариантами ремоделирования миокарда также малочисленны, что ограничивает статистическую достоверность полученных результатов. Однако полученные данные обеспечены точностью измерения параметров, системно обработаны внутри выборочных совокупностей с использованием современной репрезентативной статистической обработки и современных статистических методов (программные пакеты SciPy и StatsModels). При оценке значимости различий между двумя группами количественных показателей применяли t-критерий Стьюдента, для сравнения групп с бинарными данными использовали точный тест Фишера, который не имеет ограничения по размеру выборки. Методом линейной регрессии были оценены факторы, способные повлиять на результаты исследования. Несмотря на то, что метод линейной регрессии имеет ограничения по размеру выборки, объем групп сравнения был достаточный для применения метода.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результаты, выводы и практические рекомендации, изложенные в диссертации, несомненно, имеют кумулятивное значение для медицинской науки, формулируют ряд практических решений в области генетики, в сфере кардиологической помощи пациентам. Сегодня алгоритмы обследования в ограниченной и расширенной панели генов для определения генетических вариантов и классов патогенности, установленных в Руководстве по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) 2017-2018 гг., а также в рекомендациях Американского колледжа медицинской генетики 2015 г., активно внедряются в клиническую практику.

Полученные автором результаты позволяют рекомендовать персонализировать медико-генетическое консультирование семьям пациентов с различными клиническими вариантами синдрома некомпактного миокарда левого желудочка при организации дифференциального подхода к ДНК-диагностике для решения важнейших задач профилактики осложнений заболевания.

Тема диссертации является перспективной для дальнейшей научной разработки. Автором представлены основные направления в развитии данного направления: описание новых генетических вариантов наряду с детальным фенотипированием, что позволит выявлять новые «генотип-фенотип» корреляции и данные о взаимосвязи различных кардиомиопатий. Перспективным представляется анализ генов, вовлеченных в эмбриогенез сердца.

Структура и оценка содержания диссертационной работы.

Работа изложена на 148 страницах машинописного текста, состоит из традиционных разделов (введение; 3 главы текста – обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение; заключение; выводы; практические рекомендации и библиографический список) и

проиллюстрирована 28 таблицами и 25 рисунками. В библиографическом списке 106 литературных источников, из них 101 зарубежных и 5 отечественных. Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

Первая задача по оценке доли спорадических и семейных случаев и изучению типов наследования в семейных случаях решена частично – не для всех семей была собрана клиническая информация о наличии/отсутствии кардиопатии у родственников I степени родства. Во многих семьях о наличии кардиопатии можно судить только по косвенным сведениям – жалобам и сердечно-сосудистым событиям (например, наличие в анамнезе у родственника пациента инфаркта миокарда или внезапной сердечной смерти). Так же в качестве замечаний по оформлению необходимо отметить некоторое количество опечаток, отсутствие расшифровки легенды некоторых рисунков (например, рисунки 23, 24), а также периодическое размещение таблиц на соседних страницах, что затрудняет восприятие информации.

Все указанные замечания не носят принципиального характера, не умаляют сегодняшней значимости работы и определяют необходимость дальнейшего научного продвижения.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Поляк Маргариты Евгеньевны на тему «Клинико-генетический полиморфизм синдрома некомпактного миокарда левого желудочка у российских больных», выполненная под руководством доктора медицинских наук Заклязьминской Елены Валерьевны и представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.02.07 – Генетика, выполнена на достаточном методическом уровне и является завершенной научно-квалификационной работой, содержащей обоснованное научным поиском решение актуальной научной задачи – изучение генетического спектра синдрома некомпактного миокарда левого желудочка, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли науки и практики.

Диссертационная работа соответствует критериям, установленным п.9 Положения о порядке присуждения ученых степеней (Постановление Правительства РФ №842 от 24.09.2013г. в редакции от 21.04.2016 г. №335, от 28.08.2017г. №1024)., предъявляемых к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор Поляк Маргарита Евгеньевна заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.02.07 – генетика.

Заведующий, профессор Курса пренатальной диагностики
ФГБОУ ДПО «Российская медицинская
академия непрерывного последипломного образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
д.м.н., шифр научной специальности 03.02.07 – генетика

Л.А. Жученко

Подпись д.м.н. Л.А. Жученко удостоверяю

Ученый секретарь ФГБОУ ДПО «Российская медицинская
академия непрерывного последипломного образования»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,

к.м.н., доцент

11.02.2020



Л.М. Савченко

Адрес организации: 125993 г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования «Российская медицинская
академия непрерывного профессионального образования» Министерства
здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава
России).

Тел.: +7 (499) 252-21-04

Адрес электронной почты: mrrcm@mail.ru