

## **ОТЗЫВ**

**официального оппонента, доктора медицинских наук  
Черных Вячеслава Борисовича на диссертацию  
Шестак Анны Геннадьевны «Молекулярно-генетический полиморфизм  
аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка у российских  
больных», представленную на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика**

### **Актуальность темы диссертационного исследования**

Диссертационная работа Шестак Анны Геннадьевны посвящена изучению аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка (АКПЖ). Целью диссертационного исследования являлось изучение ее генетических причин и клинико-генетического полиморфизма АКПЖ у российских пациентов, повышению эффективности ее диагностики. Основное внимание в работе уделено исследованию генов, кодирующих основные десмосомные и не-десмосомные белки, вовлеченных в этиологию заболевания, повышению эффективности его молекулярно-генетической диагностики.

АКПЖ – наследственное заболевание сердечно-сосудистой системы, которое характеризуется прогрессирующим поражением миокарда с высоким риском внезапной сердечной смерти. У многих больных заболевание развивается в молодом возрасте, и может иметь «скрытые» формы или длительный латентный период, поэтому диагноз устанавливается только после перенесенного эпизода остановки сердца или посмертно. Установлено, что поражение миокарда при АКПЖ связано с нарушением десмосом – белковых структур, обеспечивающих межклеточную адгезию кардиомиоцитов. Заболевание в большинстве случаев наследуется по аутосомно-доминантному типу, однако генетические причины и механизмы развития заболевания недостаточно изучены. Учитывая то, что для большинства форм АКПЖ характерен аутосомно-доминантный тип наследования, следует ожидать высокую частоту случаев болезни среди кровных родственников пробанда, однако без проведения молекулярно-

генетического обследования невозможно точно определить риск развития заболевания. Распространенность аритмогенной кардиомиопатии в российских популяциях не оценена. Исследование генов десмосом и в связанных с ними не-десмосомных генов у российских пациентов с АКПЖ ранее не проводилось. Кроме того, не установлено четких клинико-диагностических признаков заболевания, что приводит к поздней диагностике. Это имеет существенное клиническое значение, так как пациенты с достоверным, так и вероятным или возможным диагнозом АКПЖ требуют тщательного динамического наблюдения и выбора тактики лечения, включая проведение оперативного лечения, поскольку они находятся в группе риска внезапной сердечной смерти.

Учитывая недостаточную изученность генетических причин и механизмов развития АКЖП, ее клинического полиморфизма у носителей генетических вариантов, связанных с ее развитием, а также высокий риск осложнения заболевания – внезапной сердечной смерти, тема данного диссертационного исследования, несомненно, имеет высокую актуальность.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационное исследование А.Г. Шестак выполнено на репрезентативной выборке, состоящей из 80 пробандов с аритмогенной кардиомиопатией правого желудочка и 16 их родственников пациентов, учитывая редкость заболевания. Исследование проведено на высоком методологическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических методов, в том числе высокоразрешающих методов исследования ДНК – массового (высокопроизводительного) параллельного секвенирования или секвенирование нового поколения (MPS/NGS), прямого секвенирования по Сенгеру.

Биоинформатический анализ данных секвенирования ДНК проведен с использованием специальных компьютерных программ и имеющихся баз

генетических данных. Полученные в работе данные проанализированы с помощью адекватных методов статистического исследования.

Все задачи, сформулированные в работе, решены в полном объеме. Положения диссертации логичны, выводы и практические рекомендации обоснованы и непосредственно вытекают из полученных результатов.

Результаты диссертационной работы опубликованы в 76 научных работах, включая 23 статьи, из них 18 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, и 5 статей, индексируемых в базах данных Scopus и/или Web of Science, и 53 тезиса в материалах научных конференций. Материалы результатов диссертационного исследования представлены на 10 российских и 12 международных конференциях.

Предложенные рекомендации могут быть внедрены в широкую медицинскую практику. Результаты исследования внедрены в практику медико-генетического консультирования, диагностический и лечебный процесс лаборатории медицинской генетики и отделения хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции, а также в программы непрерывного дополнительного профессионального образования ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского». Результаты исследования включены в клиническую классификацию АКПЖ, которая внедрена в лечебный и учебный процесс Факультетской терапевтической клиники имени В.Н. Виноградова и кафедры факультетской терапии № 1 ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России. Все это позволяет сделать заключение об обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе А.Г. Шестак.

### **Научная новизна и теоретическая значимость работы**

Научная новизна диссертационного исследования А.Г. Шестак обусловлена получением новых данных о генетике кардиомиопатий, в частности о вариантах частоте и спектре вариантов генов, кодирующих белки

десмосом и ассоциированных с ними (не-десмосомных) белков, связанных с развитием аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка, у российских пациентов с АКПЖ и дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), выявлением их новых редких генетических вариантов. Большинство вариантов нуклеотидной последовательности выявлены в десмосомных генах *PKP2*, *DSG2* и *DSP*, при этом наибольшая их частота отмечена в гене *PKP2*, а не в гене *DSP*, что российских пациентов с АКПЖ от пациентов из других европейских популяций.

Установлено, что нуклеотидные варианты III-V классов патогенности в десмосомных генах преобладают у пациентов с АКПЖ, но встречаются и при дилатационной кардиомиопатии (ДКМП), что расширяет современные представления о генетической гетерогенности кардиомиопатий.

Помимо результатов генетического исследования к достоинствам диссертационного исследования А.Г. Шестак следует отнести новые данные о фенотипических проявлениях аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка, клинических признаков сочетания разных типов кардиомиопатий, включая уникальное сочетание АКПЖ и некомпактного миокарда левого желудочка, выявленное у 11,3% пробандов из выборки.

Автором проанализированы гено-фенотипические корреляции у пациентов с аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка, у которых были выявлены патогенные, вероятно патогенные и генетические варианты неизвестной клинической значимости, а также у пациентов, у которых генетические варианты III-V классов патогенности не обнаружены. Установлено, что для пациентов с АКПЖ, имеющих варианты генов, кодирующих белки десмосом и связанные с ними не-десмосомные белки, характерен более ранний возраст манифестации заболевания (23,7 лет против 31,9 лет) и тяжесть клинических проявлений, более высокой частота встречаемости электрокардиографических изменений (эпсилон-волна на ЭКГ), а также более высокая частота случаев внезапной сердечной смерти и кардиомиопатий у родственников (47,6% против 10%).

## **Значимость полученных результатов для науки и практики**

Результаты, выводы и практические рекомендации, изложенные в диссертации А.Г. Шестак, несомненно обладают научной новизной и имеют практическое значение для кардиологии и медицинской генетики. Данная диссертационная работа послужит научной и методологической основой для дальнейшего изучения фенотипической и генетической гетерогенности наследственных кардиомиопатий, их клинической вариабельности, частоте генных вариантов исследованных генов у российских пациентов с АКПЖ.

Автором оценена диагностическая эффективность проведенной ДНК-диагностики АКПЖ как в общей выборке пробандов, так и в подгруппах пациентов с достоверным, вероятным или возможным диагнозом АКПЖ, установленным до проведения молекулярно-генетического обследования. Показано, что эффективность выявления генетической причины АКПЖ различна у пациентов с разными вариантами ремоделирования миокарда.

Полученные автором данные по выявлению феномена «выпадения» аллеля по данным массового параллельного секвенирования ДНК и его причинам показывают значимость для дальнейшего изучения вклада данного явления и его учета при проведении молекулярно-генетической диагностики наследственных заболеваний и оценке ее эффективности.

Несомненную научную и практическую значимость для дальнейшего исследования, медико-генетического консультирования имеет созданный регистр пациентов с аритмогенной кардиомиопатией правого желудочка, биобанк биологических образцов, а также разработанный алгоритм ДНК-диагностики АКПЖ, учитывающий вариант ремоделирования миокарда и наличие/отсутствие признаков других типов кардиомиопатий.

Результаты, полученные в работе, могут быть использованы в практической работе специализированных кардиологических и кардиохирургических центров и отделений, для выбора тактики лечения, при оценке риска и формирования системы мероприятий, направленных на первичную и вторичную профилактику внезапной сердечной смерти, а также

использованы в лекционном курсе для студентов медицинских и биологических специальностей, врачей-генетиков, лабораторных генетиков, кардиологов и терапевтов.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

Диссертационная работа изложена на 149 страницах печатного текста, построена по традиционному плану, состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материал и методы, результаты и обсуждение, заключение и выводы, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка сокращений и списка литературы, и приложения. Текст диссертации иллюстрирован 25 таблицами и 31 рисунком. В ее библиографическом списке 217 литературных источников, из них 210 зарубежных и 7 отечественных.

В разделе «Введение» автором наглядно обоснована актуальность темы и целесообразность настоящего исследования. Цель работы сформулирована ясно и точно, задачи корректны и соответствуют цели исследования.

Глава 1 «Обзор литературы» в полной мере отражает современное состояние изучения аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка, ее генетической гетерогенности, полиморфизме клинических проявлений АКПЖ, подходах к ДНК-диагностике, ограничениях существующих молекулярно-генетических технологий. Материал изложен в логической последовательности, источники научной литературы хорошо подобраны.

Глава 2 «Материал и методы» подробно описывает характеристику исследованных выборок больных и индивидуумов контрольной группы, а также использованных в работе методов исследования и статистического анализа.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» разделена на 3 части (подраздела). В первом подразделе представлены результаты анализа генетических вариантов в десмосомных (*PKP2*, *DSG2* и *DSP*) и не-десмосомных (*LMNA*, *SCN5A*, *MYBPC3* и *MYH7*) генах, в том числе известных и вновь описанных вариантов нуклеотидной последовательности в генах, связанных с развитием

АКЖП. Приведено подробное обоснование отнесения выявленных генетических вариантов к тому или иному классу патогенности.

Во втором подразделе оценивается эффективность диагностики АКЖП в общей выборке пробандов, так и отдельно в подгруппах пробандов с достоверным, вероятным или возможным ее диагнозом, поставленным до проведения молекулярно-генетического исследования. Уделено внимание патогенно значимым (каузативным) генетическим вариантам и их вкладу в диагностику заболевания. Приведены результаты сравнительного анализа спектра генетических вариантов в выборке пациентов с АКПЖ и группе пациентов с дилатационной кардиомиопатией (ДКМП), также корректной интерпретации результатов молекулярно-генетического исследования и отнесению выявленных генетических вариантов к тому или иному классу патогенности. Проанализированы выявленные случаи «выпадения» аллеля, связанные с потерями одного аллеля и недостаточной представленностью «маркерного» генетического варианта на прочтениях (ридах) нуклеотидных последовательностей при проведении массового параллельного (высокопроизводительного) секвенирования ДНК.

В третьем подразделе автором исследован клинический полиморфизм изучаемого заболевания, гено-фенотипические корреляции. На примере отдельных генетических вариантов показана важность ре-анализа их патогенности/клинической значимости и повторной интерпретации выявленных генетических вариантов, возможность модифицирующего влияния генетических вариантов исследованных генов на развитие АКПЖ.

По результатам проведенного исследования автором разработан алгоритм молекулярно-генетической диагностики АКПЖ. Предложены возможные перспективы и направления дальнейших исследований, а также даны практические рекомендации.

В целом, текст диссертации написан хорошим литературным языком, изложение обзора литературы и результатов диссертационного исследования хорошо структурировано и логично. Выводы сформулированы кратко и ясно.

Автореферат и опубликованные работы достаточно полно излагают основные результаты диссертационного исследования.

Принципиальных замечаний по работе нет. Из несущественных замечаний можно отметить опечатки, ошибки согласования в тексте диссертации и автореферата, терминологически и стилистические некорректные выражения, которые иногда искажают смысл, например, «генотип-позитивные пробанды», «сильная клеточная адгезия», «серьезный прогресс заболевания», «диагностическая эффективность ДНК-диагностики», «VUSes» вместо «VUS», «SNV(s)» вместо «SNV», «vs» вместо «против» и др.

В таблицах 9-11 и 16 диссертации и таблице 1 автореферата есть незаполненные ячейки в столбце «Изменение белка» для некоторых обнаруженных генетических вариантов. В подписи к таблице 2 в автореферате не приведена расшифровка аббревиатуры MAF.

При прочтении работы возникает вопрос почему автор рекомендует исследовать панель из 16 генов, если патогенные варианты обнаружены только в 7 генах (в трех генах, кодирующих белки десмосом и в четырех генах не-десмосомных белков)? Имеет ли смысл вначале исследовать эти гены, а в случае отсутствия в них патогенных/вероятно патогенных вариантов анализировать остальные гены, связанные с АКПЖ?

Однако следует отметить, что высказанные замечания не являются принципиальными, и не снижают общей положительной оценки работы.

### **Заключение**

Диссертационное исследование Шестак Анны Геннадьевны «Молекулярно-генетический полиморфизм аритмогенной кардиомиопатии правого желудочка у российских больных», выполненное под руководством доктора медицинских наук Заклязьминской Елены Валерьевны и представленное к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика, является завершённой

научно-квалификационной работой, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли науки и практики.

Диссертационная работа Шестак Анны Геннадьевны соответствует критериям, установленным 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 21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., №650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2011г., №1168 от 01.10.2018г.), предъявляемых к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.7. Генетика.

11.04.2022г.

Зав. лаборатории генетики нарушений репродукции

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»  
(ФГБНУ МГНЦ),

доктор медицинских наук

шифр научной специальности: 1.5.7. Генетика



В.Б. Черных

Подпись Черных Вячеслава Борисовича заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», к.м.н.

Воронина Екатерина Сергеевна



Адрес организации: 115522, Москва, ул. Москворечье, д.1

Тел.: +7 (499) 612-86-07; +7 (499) 612-00-37

Адрес электронной почты: mgnc@med-gen.ru