

Отзыв

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента Лифшиц Галины Израилевны на диссертацию Ивановой Анастасии Андреевны на тему «Комплексное исследование молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям

3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки)

Актуальность темы диссертации

Работа посвящена комплексному изучению молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти, которая продолжает оставаться одной из актуальных и значимых проблем современного здравоохранения, так как смертность от сердечно-сосудистых заболеваний все еще находится на лидирующих позициях в структуре причин смертности населения Российской Федерации. Около половины случаев смерти вследствие сердечно-сосудистых заболеваний – это внезапная сердечная смерть. При этом выживаемость после эпизода внезапной остановки сердца составляет не более 10%. Внезапная сердечная смерть относится к многофакторным заболеваниям, в патогенезе которых важную роль отводят не только внешним факторам (факторам окружающей среды, факторам риска внезапной сердечной смерти), но и генетическим факторам. Среди непосредственных причин внезапной сердечной смерти выделяют ишемическую болезнь сердца и нарушения ритма, кардиомиопатии, которые имеют генетическую основу своего развития. В последние годы отмечается интерес к проблеме внезапной сердечной смерти в связи с активным развитием и внедрением в практическую медицину превентивных, профилактических технологий, что потенциально может помочь снизить частоту внезапной сердечной смерти в первую очередь у лиц с известным сердечно-сосудистым заболеванием, которое потенциально может привести к внезапной сердечной смерти (лица с ишемической болезнью сердца, инфарктом миокарда или остановкой сердца в анамнезе, гемодинамически значимыми нарушениями ритма сердца, кардиомиопатиями и др.). Но идентификация лиц высокого риска внезапной сердечной смерти среди населения в целом (в том числе у лиц без известной значимой в отношении внезапной сердечной смерти кардиальной патологии) по-прежнему остается сложной задачей. Поэтому

комплексный взгляд на молекулярно-генетические основы внезапной сердечной смерти и идентификация ее маркеров риска с целью своевременного прогнозирования и профилактики развития летального исхода являются актуальными как с фундаментальной, так и с практической точки зрения.

Обоснованность и достоверность основных положений, результатов и выводов диссертации

Автором проведено комплексное многоэтапное исследование:

1) Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных полиморфизмов ($n=22$), выявленных по результатам полногеномного аллелотипирования.

2) Исследование мутаций ($n=10$), выявленных методом полноэкзомного секвенирования в зарубежных исследованиях. Дизайн этапов «случай-контроль», сформированы сопоставимые по размеру, возрасту и полу группы случая ($n=441$) и контроля ($n=432$). Для исследования выбраны варианты, которые как предполагается, могут быть молекулярно-генетическими маркерами внезапной сердечной смерти по результатам полногеномного аллелотипирования на пулированной ДНК и данным зарубежных исследований.

3) Экзомное секвенирование проведено на небольшой группе мужчин ($n=37$) в возрасте 20-45 лет, выполнен квалифицированный и качественный анализ полученных данных согласно существующим рекомендациям по анализу данных такого рода. Результаты экзомного секвенирования частично подтверждены секвенированием по Сэнгеру.

4) Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью однонуклеотидных полиморфизмов, выявленных при анализе результатов экзомного секвенирования. Была сформулирована гипотеза выявления молекулярно-генетических маркеров с использованием данных экзомного секвенирования, для оценки гипотезы проверены 7 однонуклеотидных вариантов с использованием дизайна этапов 1,2.

5) Исследование ассоциации с внезапной сердечной смертью метилирования 4 генов с использованием группы внезапной сердечной смерти и внезапной несердечной смерти. Обращает на себя внимание правильно выполненный подбор групп для исследования: так как метилирование ДНК является тканеспецифичным

для исследования была использована ДНК выделенная из ткани миокарда в обеих группах.

Молекулярно-генетический анализ выполнен с помощью современных молекулярно-генетических методов, которые полно и подробно описаны автором.

Статистический анализ проведен с использованием современных инструментов, по общепринятым способам.

Таким образом, полученные результаты являются достоверными, а сделанные выводы обоснованными.

Новизна исследования и полученных результатов

Большинство из изученных молекулярно-генетических маркеров (мутаций, частых вариантов нуклеотидной последовательности) ранее не были исследованы в отношении связи с внезапной сердечной смертью, что подтверждает уникальность и научную новизну полученных результатов, которые в будущем могут быть использованы для определения риска внезапной сердечной смерти задолго до ее наступления у лиц, в том числе и без известной кардиальной патологии.

Проведенное экзомное секвенирование является одним из первых исследований, выполненных в России на группе молодых мужчин умерших внезапной сердечной смертью, и показывает свою эффективность в поиске патогенных вариантов в случае внезапной сердечной смерти в рамках персонализированной медицины, когда необходимо получить ответ о причине развития внезапного летального исхода в конкретном случае или семье, что подчеркивает необходимость внедрения метода секвенирования нового поколения в протоколы молекулярной аутопсии при внезапной сердечной смерти.

Эпигенетические маркеры внезапной сердечной смерти изучены недостаточно как в Российской Федерации, так и в зарубежных странах, существуют лишь единичные зарубежные публикации по ассоциации метилирования ДНК с внезапной сердечной смертью. Полученные результаты свидетельствуют о некотором вкладе метилирования ДНК в развитие внезапной сердечной смерти, что требует дальнейшего изучения, не только метилирования ДНК в рамках внезапной сердечной смерти, но и других эпигенетических маркеров.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Работа несет потенциал внедрения при продолжении данной разработки, имеющей непосредственное отношение к фундаментальной и практической медицине. Результаты исследования доказывают, что молекулярная аутопсия методом экзомного секвенирования является необходимым для генетического анализа при внезапной сердечной смерти. А найденные новые ДНК-маркеры внезапной сердечной смерти (rs34554140, rs6670279 гена *NAALADL2*, rs12904699 гена *OR4F6*, rs12170546 гена *PARVB*, rs6582147, rs2136810 гена *ARAP2*, rs16994849 гена *PLCB1*, rs17797829, rs35089892 гена *SAMK2B*, rs6762529 гена *NAALADL2*, rs10010305, rs61999948, rs34643859 гена *KCNS1*, и статус метилирования промотора гена *ABCA1*), как формулирует в практических рекомендациях автор, после дополнительных репликационных исследований могут быть использованы наряду с традиционными клиническими факторами риска для стратификации риска внезапной сердечной смерти, особенно у молодых мужчин (спортсменов, лиц с профессиями тяжелого физического труда, отягощенной наследственностью).

Личный вклад автора

Автор самостоятельно выполнил большую часть проведенного исследования: принимал участие в выделении ДНК, участвовал в формировании групп, самостоятельно отбирал маркеры для исследования, самостоятельно разрабатывал методики генотипирования, проводил генотипирование групп, оценку статуса метилирования, самостоятельно осуществлял статистический анализ данных, участвовал в анализе данных экзомного секвенирования.

Все результаты диссертационного исследования опубликованы (21 статья в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК РФ, из них 9 индексированы в базах данных Scopus/Web of Science).

Оценка содержания и завершенности диссертации

Диссертационная работа Ивановой А.А. является законченным научным трудом, изложена на 288 странице машинописного текста, иллюстрирована 32 таблицами и 34 рисунками. Работа состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты и обсуждения), заключения, содержит заключение, выводы и указатель литературы, включающий 21 ссылку на отечественные и 352 ссылок на зарубежные источники, приложение, состоящее из 5 таблиц.

Литературный обзор характеризует современное представление о внезапной сердечной смерти (эпидемиология, этиология, факторы риска, молекулярная аутопсия). Используются современные, актуальные источники литературы.

В главе «Материалы и методы» дана достаточно полная характеристика этапов исследования, групп, включенных в него.

Глава «Результаты и обсуждение» дает полное представление о результатах проведенного исследования и их значимости.

Диссертационная работа написана понятным языком, с корректным использованием специальной терминологии. Каждая глава диссертации изложена достаточно полно. Работа полностью соответствует поставленной цели и задачам исследования.

Автореферат содержит основные положения диссертационного исследования. Материал в автореферате изложен четко, логично, понятно, соответствует проведенному исследованию и полученным результатам.

По результатам работы опубликовано 21 статья в журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ (из них 9 индексированы в базах данных Scopus/Web of Science), 28 тезисов докладов.

Диссертационное исследование соответствует паспортам искомых специальностей 3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Замечаний принципиального характера к диссертационной работе нет.

Вопросы:

1. В связи с чем для разделения групп по возрасту был выбран возраст 50 лет, а для экзомного секвенирования были отобраны мужчины в возрасте до 45 лет?
2. В группу лиц для исследования метилирования ДНК и экзомного секвенирования включены только мужчины, с чем связан такой дизайн исследования?
3. Объясните связь полиморфизмов генов *KCNS1* с признаками атеросклероза коронарных артерий и *NAALADL2* с индексом атерогенности?
4. Как, на Ваш взгляд, должна выглядеть генетическая панель для тестирования групп высокого риска ВВС для использования в реальной клинической практике?

Заключение

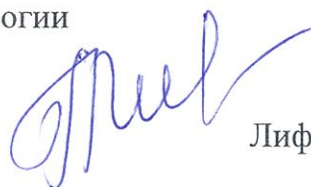
Диссертационная работа Ивановой А.А. является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема по комплексному изучению ассоциации с внезапной сердечной смертью молекулярно-генетических маркеров, в том числе эпигенетических, что имеет важное значение для

современной медицины в общем, и кардиологии частности. Полученные результаты могут быть использованы для разработки систем диагностики предрасположенности к внезапной сердечной смерти и ее профилактики с целью снижения уровня внезапной сердечно-сосудистой смертности у лиц с известной или неизвестной кардиальной патологией.

По актуальности, новизне, практической значимости и достоверности полученных результатов, полноте изложения и обоснованности выводов, а также по публикационной активности диссертационная работа Ивановой Анастасии Андреевны «Комплексное исследование молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти», научный консультант д.м.н., проф. Максимов В.Н., представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки) соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Иванова Анастасия Андреевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук,
заведующая лабораторией
персонализированной медицины
ФГБУН «Институт химической биологии
и фундаментальной медицины»
Сибирского отделения
Российской академии наук



Лифшиц Галина Израилевна

Подпись доктора медицинских наук, Лифшиц Г.И. заверяю:
Ученый секретарь ФГБУН «Институт
химической биологии и фундаментальной
медицины» Сибирского отделения
Российской академии наук
кандидат биологических наук



Югашенко Евгения Борисовна

2 августа 2023 года

Сведения об организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН).

630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8;

телефон: +7 (383) 363-51-50

Официальный сайт: <https://www.niboch.nsc.ru>

Электронный адрес: niboch@niboch.nsc.ru