

Отзыв

официального оппонента

доктора медицинских наук Мешкова Алексея Николаевича
на диссертационную работу Ивановой Анастасии Андреевны
«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

Одна из основных причин смерти от сердечно-сосудистых заболеваний - внезапная сердечная смерть (ВСС). Ситуация с ВСС в мире продолжает оставаться важной нерешенной проблемой современной кардиологии, генетики и медицины в целом. В России ежегодно происходит более 300 000 случаев ВСС. В структуре ВСС первое место принадлежит ишемической болезни сердца, на долю которой может приходиться до 75-80% этих случаев, второе место занимают кардиомиопатии (гипертрофическая кардиомиопатия, дилатационная кардиомиопатия, некомпактная кардиомиопатия, аритмогенная дисплазия правого желудочка) (10-15%), а 5-10% случаев приходится на долю первичных электрических болезней сердца. Шансы на восстановление жизненных функций при ВСС минимальны, даже если пациент находится под контролем врачей в стационаре. Многие из умерших внезапной сердечной смертью до наступления летального исхода считались здоровыми людьми, у которых не было зафиксировано каких-либо сердечно-сосудистых жалоб или заболеваний. С учетом современного курса медицины на развитие превентивных технологий и персонализированной медицины, поиск маркеров внезапной сердечной смерти, которые могут стать основой диагностики предрасположенности к ней задолго до ее наступления, является важным и актуальным направлением научных исследований. Внезапная сердечная смерть - многофакторное состояние, при котором определенную роль в развитии играют и генетические факторы, которые

могут быть использованы для определения риска внезапной сердечной смерти наряду с клиническими фенотипическими факторами. Использование ДНК-маркеров в диагностике внезапной сердечной смерти представляется важным как для лиц с известной, так и неизвестной сердечно-сосудистой патологией, так и для родственников умерших ВСС. А проведение ранних профилактических мероприятий на основе полученных данных могло бы позволить сократить количество ВСС. Таким образом, диссертационное исследование Ивановой А.А. направлено на поиск новых молекулярно-генетических маркеров внезапной сердечной смерти, что является крайне важным и актуальным направлением научных исследований.

Исследование соответствует направлению из Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации (Указ Президента Российской Федерации от 1 декабря 2016 г. № 642 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации») – переход к персонализированной медицине, высокотехнологичному здравоохранению и технологиям здоровье сбережения, в том числе за счет рационального применения лекарственных препаратов (прежде всего антибактериальных), что также подчеркивает его актуальность.

Диссертационная работа выполнена в рамках нескольких проектов Российского Фонда Фундаментальных Исследований, Правительства Новосибирской области, стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики, что подтверждает высокую значимость, актуальность и важность проведенного исследования не только в региональном масштабе, но и в масштабе страны.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций

Исследование состоит из 5 этапов (частей). Каждый этап имеет четкий дизайн (для 4 из 5 – «случай-контроль»). Группа ВСС, включенная в исследование, сформирована с использованием четких критериев включения и исключения. Контрольная группа подобрана таким образом, чтобы не было межгрупповых

различий по полу и возрасту. Обращает на себя внимание подбор особой группы контроля для исследования метилирования ДНК, группа сформирована также из умерших внезапной, но несердечной смертью, так как при исследовании метилирования необходимо, чтобы ДНК была выделена из одинакового биоматериала (в данном случае ткани миокарда), что связано с особенностями метилирования в разных тканях. Размер групп достаточен и позволяет получить статистически достоверные результаты.

Методы, с помощью которых проведено диссертационное исследование современные, что также не позволяет сомневаться в достоверности полученных результатов, а соответственно, и научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Группа ВСС отобрана после проведения стандартной судебно-медицинской экспертизы квалифицированными специалистами. Группа контроля сформирована из участников международных проектов HAPIEE, MONICA, анкетирование, осмотр, лабораторные исследования которых были осуществлены профессионально и под строгим контролем международного научного сообщества. Методы молекулярно-генетического анализа, использованные в диссертационном исследовании А. А. Ивановой являются современными, некоторые передовыми (метилспецифичная ПЦР, экзомное секвенирование). Методы подробно описаны, что не дает усомниться в правильности полученных результатов. Статистическая обработка данных закономерна, выбранные методы статистического анализа корректны.

Таким образом, достоверность и обоснованность результатов бесспорны. Научные положения, выводы, рекомендации соответствуют полученным результатам.

Научная новизна исследований, положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна данных, представленных в диссертации, не вызывает сомнений.

Впервые найдена ассоциация ВСС с 13 однонуклеотидными вариантами у умерших внезапной сердечной смертью. Все варианты ранее не были исследованы

в отношении связи с ВСС. Для некоторых вариантов показана ассоциация с фенотипическими параметрами (признаки атеросклероза, индекс атерогенности, толщина миокарда правого желудочка, частота сердечных сокращений), что позволяет предположить патогенетический механизм вклада варианта в развитие ВСС.

Проведен поиск 10 мутаций в выборке умерших ВСС, не найдено носителей 9 мутаций, одна мутация оказалась несвязанной с внезапной сердечной смертью, несмотря на наличие носителей в группах. Полученные данные свидетельствуют о популяционных различиях и о необходимости проведения секвенирования всех белок кодирующих последовательностей генов связанных с развитием ВСС.

Впервые в России проведено экзомное секвенирование группы мужчин умерших ВСС, в половине случаев удалось найти вероятно причинные варианты. Идентифицировано шесть новых редких вариантов нуклеотидной последовательности генов.

Впервые проведена оценка ассоциации ВСС со статусом метилирования ДНК нескольких генов. Существует несколько зарубежных исследований метилирования ДНК при внезапной сердечной смерти, российских исследований ранее проведено не было.

Таким образом, большая часть изученных маркеров ранее не были изучены в отношении ВСС ни в российских, ни в зарубежных исследованиях, что подчеркивает новизну сформулированных положений, выводов и рекомендаций.

Публикации результатов

По результатам диссертационного исследования опубликовано 28 тезисов докладов и 21 статья в рецензируемых журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ (9 индексированы в базах данных Scopus или Web of Science). Публикации полностью отражают полученные результаты.

Результаты исследования представлены в виде устных и постерных докладов на региональных, российских, международных конференциях и симпозиумах (Национальный конгресс терапевтов, 2017 год; Фундаментальные исследования в эндокринологии: современная стратегия развития и технологии

персонализированной медицины, 2020 год; IX съезд кардиологов Сибирского федерального округа, 2021 год; Национальный конгресс терапевтов, 2021 год; The international symposium systems biology and biomedicine (SBIOMED-2016); The European Human Genetics Conference 2017; Российский национальный конгресс кардиологов, 2017 год; IX Съезд российского общества медицинских генетиков, 2021 год).

Структура, содержание и оформление диссертации и автореферата

Диссертационная работа представлена на 288 страницах машинописного текста, построена по традиционному типу, состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения), заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложения. Диссертация проиллюстрирована 34 рисунками, материал представлен в виде 32 таблиц. Приложение содержит 5 таблиц. В списке литературы 373 источника литературы (21 отечественный источник, 352 зарубежных источника).

Материал в диссертации изложен структурировано, четко и логично. Работа написана профессиональным языком с верным использованием специальной кардиологической и генетической терминологии.

Во введении представлена информация об актуальности, степени разработанности темы исследования, сформулированы цель и задачи исследования, научная новина, практическая и теоретическая значимость работы, кратко описаны методология и методы исследования, представлены положения, выносимые на защиту, указаны степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора, объем и структура работы, приведены данные по публикациям результатов исследования.

Обзор литературы включает в себя исчерпывающие данные о современном представлении о феномене ВСС с использованием современных и достоверных источников информации. В главе описаны эпидемиология, этиология, патогенез, факторы риска (в том числе рискометры) ВСС, представлены данные о месте

молекулярной аутопсии в современной судебно-медицинской экспертизе лиц умерших внезапно. Большая часть обзора посвящена молекулярно-генетическим маркерам внезапной сердечной смерти (исследования «случай-контроль», полногеномные ассоциативные исследования, исследования с помощью методов секвенирования следующего поколения), также представлена информация об исследованиях метилирования ДНК при сердечно-сосудистых заболеваниях, лежащих в основе внезапной сердечной смерти. В обзоре упоминается об исследованиях митохондриальной ДНК при внезапной сердечной смерти. То есть первая глава дает полное представление не только о самой внезапной сердечной смерти, но и о современных генетических исследованиях в области внезапной сердечной смерти.

Глава «Материалы и методы» описывает дизайн и методы исследования. Обращает на себя внимание продуманность дизайна исследования, четкое изложение критериев включения/исключения лиц в группу, дано исчерпывающее описание групп. Несмотря на сложный дизайн и многоэтапное исследование, глава написана понятно и логично. Представлено полное описание молекулярно-генетических методов, с помощью которых осуществлялась лабораторная работа, а также методов статистической обработки, использованных при анализе результатов.

В главе «Результаты и обсуждения» представлены результаты исследования и их анализ в рамках доступной научной литературы. Важно отметить, что многие молекулярно-генетические маркеры были исследованы впервые, поэтому данных каких-либо российских или зарубежных исследований по изученным маркерам нет. Материал представлен с использованием большого количества рисунков и таблиц, там, где это необходимо, что облегчает понимание полученных результатов и делает результаты работы более наглядными.

Заключение и выводы являются логичным обобщением полученных результатов. Практические рекомендации соответствуют результатам проведенного исследования.

Автореферат соответствует диссертационному исследованию, в нем полностью представлены основные результаты работы.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов

По результатам диссертационного исследования сформулированы практические рекомендации, которые касаются использования найденных генетических маркеров в диагностике предрасположенности к внезапной сердечной смерти, что является важным для профилактики развития внезапного летального исхода, прежде всего для лиц без известных сердечно-сосудистых заболеваний и кровных родственников жертв внезапной сердечной смерти.

Кроме того, получены новые данные о распространённости однонуклеотидных вариантов у жителей г. Новосибирска, наличия или отсутствия ассоциации внезапной сердечной смерти с большим количеством молекулярно-генетических маркеров, что важно для проведения будущих научно-исследовательских проектов и продолжения изучения генетики внезапной сердечной смерти.

Проведенное полноэкзомное секвенирование и его результаты позволяют рекомендовать использование метода полноэкзомного секвенирования в процессе судебно-медицинской экспертизы лиц умерших внезапной сердечной смертью.

Личное участие автора

Иванова А.А. самостоятельно выполнила большой объем диссертационного исследования (выделение ДНК из ткани миокарда методом фенолхлороформной экстракции, отбор маркеров для исследования, разработка методик полимеразной цепной реакции, генотипирование групп по выбранным полиморфизмам и мутациям, оценка статуса метилирования ДНК, статистическая обработка полученных результатов), участвовала в формировании групп, включенных в исследование, анализе данных экзомного секвенирования. Совместно с соавторами создана и зарегистрирована база данных.

Диссертационное исследование соответствует пунктам паспортов искомых специальностей 3.1.20. Кардиология (11. Генетика (генодиагностика и генотерапия) сердечно-сосудистых заболеваний) и 1.5.7. Генетика (медицинские

науки) (7. Генетика человека и медицинская генетика. Генетические механизмы наследственных аномалий. Мультифакторные заболевания. Разработка методов диагностики наследственных заболеваний и предрасположенности к ним. Генотерапия. Генетические маркеры физических, физиологических и психофизиологических признаков человека. Разработка методов диагностики генного допинга).

Принципиальных замечаний к материалам, изложенным в диссертации и в автореферате Ивановой А.А. нет. Однако возникли следующие вопросы:

1. Какая на Ваш взгляд практическая значимость методик поиска структурных вариантов и проведения функциональных исследований новых вариантов генов, выявленных при проведении секвенирования в контексте внезапной сердечной смерти?

2. Какой патогенетический механизм влияния на ВСС дифференциального метилирования промотора гена *ABCA1* в миокарде Вы можете предположить?

Вопросы носят исключительно дискуссионный характер и не снижают научно-практической ценности работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Ивановой Анастасии Андреевны «Комплексное исследование молекулярно-генетических основ внезапной сердечной смерти», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.1.20. Кардиология, 1.5.7. Генетика (медицинские науки), научный консультант д.м.н., профессор Максимов Владимир Николаевич, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы по изучению ассоциации внезапной сердечной смерти с некоторыми молекулярно-генетическими маркерами с использованием комплексного подхода, что имеет большое значение для развития кардиологии, в том числе превентивной и персонализированной.

По своей актуальности, научной новизне, степени обоснованности сформулированных в диссертации научных положений, выводов, теоретической и практической значимости полученных результатов, представленная работа соответствует требованиям пункта 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а 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:

Руководитель института персонализированной терапии и профилактики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации» (ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, г. Москва)

доктор медицинских наук

Алексей Николаевич Мешков

17.07.2023 г.

Подпись д.м.н. Мешкова А.Н. заверяю.

Ученый секретарь

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины Министерства здравоохранения Российской Федерации» (ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, г. Москва)

кандидат медицинских наук

Елена Александровна Поддубская



Федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России) 101990, г.Москва, Петроверигский пер., 10, стр.3. Телефон: +7 (495) 790-71-72. Адрес электронной почты: gnicpm@gnicpm.ru. Сайт: <https://gnicpm.ru>