

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующей лабораторией наследственных нарушений обмена веществ ФГБНУ «Медико-генетического научного Центра им. акад. Н. П. Бочкова» Захаровой Екатерины Юрьевны на диссертацию Костаревой А. А. на тему: «Молекулярно-генетические механизмы развития идиопатической рестриктивной кардиомиопатии», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология и 03.02.07 – генетика.

### Актуальность темы диссертации

Рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) является наиболее редкой среди основных морфологических форм кардиомиопатий. Наиболее тяжелыми являются идиопатические случаи заболевания, которые часто носят наследственный характер. Тяжесть течения заболевания определяется развитием синдрома сердечной недостаточности и высоким риском внезапной смерти при данной патологии. Эта группа болезней является генетически гетерогенной и в силу их редкости недостаточно изученной. При этом понимание генетических особенностей кардиомиопатий актуально как с позиции клинической значимости, так и для более детальной расшифровки патогенеза данной тяжелой группы заболеваний. В отличие от гипертрофической и дилатационной кардиомиопатий, для которых к настоящему времени описано более двух десятков причинных генов, в качестве причины развития РКМП до недавнего времени убедительно была показана роль только четырех генов: TNNI3, MYH7, ACTC и DES. Несмотря на очевидную актуальность широкого изучения генетических причин РКМП, большинство литературных данных на эту тему довольно ограничены. Даже расширение методических возможностей, ставшее доступным в последние годы в связи с появлением массового параллельного секвенирования, не привело к появлению большого количества публикаций относительно спектра генетических причин при РКМП.

Отсутствие крупных регистров пациентов с РКМП является существенным препятствием для создания системы оценки риска при данной патологии. В то же время очевидным является и тот факт, что общепринятые шкалы прогноза, разработанные в основном на когортах пациентов с ХСН ишемического генеза, не могут быть равноценно применены при различных типах КМП и в различных возрастных группах. Более того, в литературе отсутствуют сведения о возможности использования или о создании подобных шкал прогноза ХСН у пациентов детской возрастной группы. Таким образом,

создание и валидирование подобных шкал с учетом детальных знаний о генотипе пациента является крайне перспективным при ряде кардиомиопатий, в частности при РКМП.

Движение в стороны персонализированной медицины обуславливает необходимость изучения патомеханизмов, лежащих в основе не только отдельного заболевания, но и связанных с определенными мутациями в определенном гене. Результатом данных исследований должно явиться определение новых внутриклеточных мишеней, которые могут стать основой для терапии данной тяжелой группы болезней.

В связи с вышеизложенным актуальность диссертационного исследования Костаревой А. А. на тему: «Молекулярно-генетические механизмы развития идиопатической рестриктивной кардиомиопатии» не вызывает сомнений.

#### **Структура диссертации, оценка ее содержания и завершенности в целом**

Структура диссертации соответствует традиционному принципу и содержит введение, литературный обзор, раздел «Материалы и методы», результаты и обсуждение. Текст диссертации включает 314 страниц, 43 таблицы и 54 рисунка.

Во введении в краткой форме обозначена актуальность исследования и обоснована необходимость решения ключевых вопросов в исследуемой области. Представленные задачи полностью соответствуют поставленной цели исследования. Краткое описание научной новизны, теоретической и практической значимости исследования в разделе «Введение» подчеркивает важность полученных результатов.

В литературном обзоре на 43 страницах изложены современные данные о этиологии и патогенезе идиопатической рестриктивной кардиомиопатии, современных представлениях о спектре ее генетических причин о молекулярных аспектах патогенеза. Отражены сложности изучения данной патологии в связи с ее редкостью, тяжестью клинического течения и системными проявлениями. Отдельный раздел посвящен анализу кардиомиопатий в сочетании с нейромышечными заболеваниями. Проведен подробный анализ доступной литературы о молекулярных механизмах развития десминовых кардиомиопатий, кардиомиопатий, ассоциированных с мутациями в гене ламина (*LMNA*) и тропина I (*TNNI3*). Завершающая часть введения подчеркивает необходимость и перспективность дальнейших исследований, их актуальность с позиции клинической и фундаментальной медицины.

В разделе «Материалы и методы» описаны основные методы клинического и функционального исследования и принцип формирования клинических групп пациентов. Подробно описаны все применяемые молекулярные и клеточные методы, методы генетического анализа, методы биоинформатической обработки данных. Представлены протоколы создания генетических конструкций, получения индуцированных плюрипотентных клеток, культивирования и направленной дифференцировки первичных клеток и клеточных линий, методы иммуноокрашивания и экспрессионной оценки генов, что дает возможность воспроизведения всех использованных протоколов. Представлены все используемые целевые панели генов для секвенирования нового поколения, а также подробно описан алгоритм анализа патогенности выявленных вариантов.

Результаты исследования изложены на 135 страницах текста и скомпонованы в 7 глав. Все полученные данные наглядно и доступно иллюстрированы большим количеством таблиц и рисунков, позволяющих оценить первичные материалы, на основании которых делались заключения и выводы. Используемые при обработке результатов литературные источники расширяют глубину проведенного анализа и подтверждают корректность сделанных заключений.

В процессе обсуждения автор сопоставляет полученные данные с имеющейся литературой, используя большой арсенал современных источников. В заключение каждого раздела дана оценка значимости полученных результатов и их соответствие передовым научным исследованиям в изучаемой области.

Список литературы содержит большое количество современных источников, состоит из 446 цитируемых печатных изданий, включая 50 отечественных работ и 395 зарубежных.

В работе представлены многочисленные практические рекомендации, которые посвящены особенностям наблюдения и лечебной тактики у пациентов с рестриктивной кардиомиопатией. Содержание диссертации полностью соответствует двум указанным специальностям 14.01.05 – кардиология и 03.02.07 – генетика, автореферат полностью отражает содержание основных положений диссертации.

**Научная новизна обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

В настоящее время существует ограниченное число работ в области изучения генетических причин и молекулярных основ патогенеза РКМП. С учетом редкости исследуемой патологии и спектра изученных генов данная

выборка является наибольшей генетически охарактеризованной группой РКМП из всех представленных в научной литературе в настоящее время. Следует также отметить, что работа чрезвычайно многогранна и носит многоплановый характер. В нее включены клинические исследования, молекулярно-генетический анализ и большую часть работы занимает анализ молекулярных основ патогенеза.

В клинической части работы описаны новые особенности клинического течения и прогноза заболевания у пациентов с РКМП в зависимости от генотипа и возраста дебюта заболевания. Продемонстрирована потенциальная возможность использования шкал определения прогноза ХСН в группе пациентов с идиопатической РКМП. Показано ведущее значение фибрилляции предсердий (ФП) как фактора, определяющего прогноз для пациентов с идиопатической РКМП.

В работе впервые описана клиническая форма РКМП с ранним дебютом заболевания в сочетании с врожденной миопатией на фоне мутаций гена филамина С (*FLNC*). Продемонстрирована ведущая роль патогенных вариантов в гене *FLNC* среди причин развития РКМП.

Созданная автором панель для исследования последовательности множества генов методом секвенирования нового поколения, ответственных за РКМП продемонстрировала свою высокую эффективность и позволила выявить новые, ранее не описанные генетические варианты генов. Применение двустадийного метода анализа – таргетное секвенирование на первом этапе и полноэкзомное на втором позволяет быть уверенными, что все патогенные и вероятно патогенные варианты были выявлены.

Наиболее сильной стороной работы, выделяющей ее среди других работ, посвященных генетике кардиомиопатий является анализ функциональной значимости выявленных мутаций. Получены новые данные о влиянии мутаций гена десмина на функцию клеточного дыхания, митохондриальный захват кальция и продукцию АТФ. Впервые показано влияние мутаций гена ламина А/С на дифференцировку стромальных мультипотентных клеток-предшественников в миогенном, остеогенном и адипогенном направлениях, а также продемонстрировано нарушение эпигенетической регуляции стромальных стволовых клеток под влиянием мутаций в гене ламина. Раскрыты новые молекулярно-генетические механизмы влияния мутаций R170G и R170W в гене тропонина I на чувствительность сократительных миофиламентов к ионам кальция и показана роль белка MYBPC3 в реализации эффекта данных мутаций.

Объем исследуемой выборки пациентов с РКМП, а также пациентов с хронической сердечной недостаточностью, уровень примененных в исследовании методов инструментального и молекулярно-генетического

обследования, использованные в работе методы статистического анализа и общие принципы изложения материала позволяют говорить том, что представленные в работе выводы и выдвинутые положения полностью обоснованы. Большое количество публикаций в высокорейтинговых отечественных и зарубежных изданиях подтверждает высокий методический уровень работы и значимость полученных результатов.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 35 работ в изданиях, входящих в перечень ВАК Минобрнауки РФ, из них 20 – статьи в иностранных журналах, входящих в базы Web of Science и SCOPUS. Опубликованные работы полноценно отражают результаты и положения выполненного диссертантом исследования.

### **Практическая ценность полученных результатов**

Результаты работы, безусловно, создают основу для разработки алгоритма молекулярно-генетического обследования пациентов с подозрением на РКМП и их родственников, и создают платформу для проведения медико-генетического консультирования в семьях. На основании полученных результатов могут быть выделены факторы, влияющие на развитие хронической сердечной недостаточности у пациентов с РКМП, как у взрослых, так и в группе детей, позволяющие прогнозировать течение заболевания.

Результаты работы, представленные Костаревой А. А. в диссертационном исследовании, позволят усовершенствовать диагностику, лечение и определения прогноза в группе пациентов с рестриктивной кардиомиопатией, а предложенная схема генетического исследования у пациентов данной группы повысит результативность и эффективность процесса медико-генетического консультирования в данной когорте пациентов.

### **Список замечаний по диссертации и автореферату**

Принципиальных замечаний нет. Работа производит впечатление фундаментального исследования с четко выраженной практической направленностью, которое имеет большую клиническую значимость. В ходе знакомства с диссертационным исследованием возник ряд вопросов:

1. Если полноэкзомное секвенирование по стоимости будет сопоставимо с проведением таргетного секвенирования можно ли его будет рекомендовать в качестве первой линии обследования пациентов с кардиомиопатией?

2. В работе у одного из пациентов не удалось установить генотип даже после проведения полноэкзомного секвенирования. С чем это может

быть связано и не считает ли автор необходимым проведение полногеномного секвенирования в таких случаях?

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Костаревой Анны Александровны «Молекулярно-генетические механизмы развития идиопатической рестриктивной кардиомиопатии» на соискание ученой степени доктора медицинских наук является завершённой научно-квалификационной работой, в рамках которой автором предложено решение крупной научной проблемы, имеющей важное значение для диагностики и определения прогноза у пациентов с генетически-обусловленными заболеваниями сердечно-сосудистой системы. В работе решена актуальная для современной кардиологии и генетики проблема – расшифровка молекулярных механизмов патогенеза наследственных кардиомиопатий.

Работа соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 N 842 «О порядке присуждения ученых степеней» в редакции, утвержденной Правительством Российской Федерации N 335 от 21.04. 2016г., предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор – Костарева Анна Александровна – заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология и 03.02.07 – генетика.

**Официальный оппонент**

Доктор медицинских наук

Должность: заведующая лабораторией наследственных болезней обмена веществ

Место работы: ФГБНУ «Медико-генетический научный Центр им. акад. Н. П. Бочкова»

Адрес: 115522 Москва, ул.Москворечье 1

Подпись официального оппонента заверяю

*Захарова*  
22.10.19

Захарова Е.Ю.

