

**Утверждаю**

Врио директора  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Томский национальный  
исследовательский  
медицинский центр  
Российской академии наук»

доктор биологических наук,  
профессор, чл.-корр. РАН  
В.А. Степанов



10 2019

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

о научно-практической значимости диссертации 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.

Несмотря на большое количество работ, которые проводятся в области сердечно-сосудистых заболеваний, кардиомиопатии остаются одними из наименее изученных и понимаемых заболеваний миокарда. В связи с редкостью рестриктивной формы кардиомиопатии и крайне неблагоприятным прогнозом при данном варианте патологии, успехи в изучении этиопатогенеза данного заболевания существенно отстают от успехов в области других групп кардиомиопатий. Рестриктивная кардиомиопатия характеризуется наличием рестриктивного фенотипа по данным ЭхоКГ в сочетании с нормальным или незначительно уменьшенным размером одного или обоих желудочков, нормальной или почти нормальной систолической функцией и нормальной или незначительно увеличенной толщиной стенок левого желудочка. Однако в дифференциальной диагностике остаются сложности, обусловленные в первую очередь тем, что рестриктивная кардиомиопатия может является частью более сложных

наследственных синдромов – нейромышечных заболеваний, болезней накопления и инфильтративных заболеваний, например, болезни Гоше, болезни Фабри, гемохроматоза и др. На протяжении длительного времени согласно литературным данным у пациентов с идиопатической рестриктивной кардиомиопатией в качестве причины развития заболевания оставались охарактеризованными только патогенные и вероятно-патогенные варианты в генах саркомерных белков, а исследуемые выборки пациентов составляли не более 12-20 человек. Работ, посвященных исследованию особенностей клинического течения и генетических детерминант рестриктивной кардиомиопатии с дебютом заболевания в разных возрастных группах в доступной на текущий момент литературе представлено крайне мало.

**Актуальность темы и связь ее с планами развития медицинской науки и здравоохранения.**

Актуальность исследования обусловлена необходимостью разработки новых методов определения прогноза и персонализированной терапии у пациентов с рестриктивной кардиомиопатией (РКМП). Новые подходы лечения должны быть основаны на результатах высокотехнологичного секвенирования нового поколения, выявляющего комплексные генетические дефекты, влияющих на универсальные внутриклеточные процессы, которые обуславливают развитие дисфункций кардиомиоцитов и миоцитов.

Кардиомиопатии относятся к относительно редким заболеваниям, в диагностике которых большую значимость имеют высокотехнологичные инструментальные методы исследования. Наряду с использованием эхокардиографии, МРТ, в последние годы все большую значимость приобретают молекулярно-биологические методы исследования. Особенно это значимо для рестриктивной кардиомиопатии, которая часто имеет наследственный генетически-обусловленный характер и может являться частью более сложных наследственных синдромов с вовлечением многих систем и органов. Изучение генетических причин идиопатической кардиомиопатии привело к пониманию, что частые и редкие полиморфные варианты ряда генов могут являться факторами, ассоциированными с



развитием диастолической дисфункции и рестриктивного кровотока. В таком случае становится очевидной целесообразность внедрения методов определения генетических дефектов, лежащих в основе кардиомиопатии, в клиническую практику с целью консультирования, пренатальной диагностики и раннего подтверждения диагноза бессимптомным носителям мутаций. Вместе с тем, именно в данной группе пациентов в связи с редкостью изучаемой патологии и ее неблагоприятным прогнозом проведение корреляций между генотипом и фенотипом представляется трудной задачей. Предполагается, что более широкое распространение высокотехнологичных методов секвенирования, позволяющего одновременно скринировать сотни генов и идентифицировать множество причинных мутаций и ассоциированных генетических вариантов расширит представление о патогенезе рестриктивной кардиомиопатии, а также позволит определить особенности клинического течения заболевания и прогноза у пациентов различных возрастных групп.

С этих позиций диссертационная работа Костаревой Анны Александровны является актуальной и своевременной.

#### **Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов.**

С позиции клинической составляющей представленной работы научную новизну составляют описанные новые особенности клинического течения и прогноза идиопатической рестриктивной кардиомиопатии в зависимости от генотипа, возраста дебюта заболевания и наличия сочетанного вовлечения нейромышечной системы. Показана принципиальная возможность использования шкал определения прогноза ХСН у пациентов с РКМП (рестриктивная кардиомиопатия). Определено ведущее значение фибрилляции предсердий как фактора, определяющего прогноз у взрослых пациентов с идиопатической РКМП.

Впервые описана клиническая форма РКМП, связанная с мутациями гена филамина С (*FLNC*), сочетающая в себе признаки врожденной миопатии и кардиомиопатии, которая характеризуется ранним дебютом заболевания.

Показано, что полиморфные варианты в генах *MADD* и *RBM20* ассоциированы с развитием диастолической дисфункцией, концентрической гипертрофией миокарда, а также сердечной недостаточностью с сохраненной фракцией выброса.

Автором впервые продемонстрировано влияние мутаций гена ламина A/C (*LMNA*) на дифференцировку стромальных мультипотентных клеток-предшественников в различных тканеспецифичных направлениях - миогенном, остеогенном и адипогенном, а также выявлено нарушение эпигенетической регуляции стромальных стволовых клеток. В работе впервые показаны новые молекулярные механизмы патогенного влияния мутаций R170G и R170W в гене тропонина I (*TNNI3*) на чувствительность миофиламентов к ионам кальция. Несомненной новизной обладают данные относительно роли белка MYBPC3 в реализации эффекта вышеперечисленных патогенных вариантов.

**Общая оценка диссертации. Степень обоснованности научных положений, выводов и практических рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность.**

Исзуемая патология относится к категории редких среди всех сердечно-сосудистых нозологий. В то же время, необходимо отметить, что исследуемая группа пациентов (35 человек) является наибольшей и наиболее полно генетически-охарактеризованной группой РКМП из всех, представленных в современной научной литературе. В исследовании были использованы методы одномоментного анализа и проспективного наблюдения. Формирование когорты пациентов происходило на основании четко сформулированных критериев включения и невключения. Основным критерием включения пациентов в исследуемую группу являлся диагноз идиопатической РКМП, установленный в соответствии с классификацией Европейского общества кардиологов. Определение причинной роли выявленных генетических вариантов проводилось на основании рекомендаций Американской ассоциации медицинской генетики (ACMG) и рекомендаций Российского общества медицинской генетики.



Молекулярно-генетические и клеточные методы исследования выполнялись в работе на высоком методическом уровне. Стандартизированные исследования проводили в соответствии с современными международными протоколами.

Объем и уровень использованных методов обследования, статистический анализ, изложение материала позволяют говорить об обоснованности выдвинутых положений и представленных выводов диссертации. Высокий методический уровень проведенных исследований и достоверность полученных результатов подтверждается наличием публикаций в высокорейтинговых отечественных и международных журналах и представлением материала на научных мероприятиях самого высокого уровня.

Полученные результаты относительно закономерностей клинического течения РКМП и определения клинико-генетических корреляций могут быть использованы для выбора оптимальной тактики лечения кардиологических пациентов детской и взрослой возрастных групп, а также определения прогноза заболевания и показаний для проведения медико-генетического консультирования. Впервые описанная клиническая форма РКМП в сочетании с врожденной миопатией имеет практическое значение для проведения междисциплинарного дифференциально-диагностического поиска. Расширены и уточнены показания для имплантации кардиовертера-дефибриллятора у пациентов с идиопатической РКМП. Выявленные новые молекулярные и клеточные механизмы развития рестриктивной кардиомиопатии, ассоциированной с мутациями в генах десмина, ламина и тропонина, имеют существенное значение для расширения представлений о патогенезе генетически-обусловленных форм кардиомиопатий.

Материалы диссертации используются в образовательном процессе в медицинских вузах.

Диссертация построена по традиционному принципу с соблюдением всех правил научного анализа, изложена на 314 страницах, достаточно просто воспринимается благодаря четкому и логичному авторскому изложению, правильному языку и грамотной орфографии.

Введение кратко отражает актуальность исследования, его обоснованность. Сформулированные задачи полностью позволяют достигнуть решения поставленной цели.

Литературный обзор изложен на 43 страницах. Содержит актуальную информацию о выбранной проблематике, в частности об известных особенностях клинического течения изучаемой патологии, спектре генетических причин рестриктивной кардиомиопатии, о сочетании данной формы заболевания с нейромышечной патологией. Подробно приводятся современные знания о молекулярных механизмах развития кардиомиопатий, ассоциированных с мутациями в генах десмина (*DES*), ламина A/C (*LMNA*), тропонина I (*TNNI3*). В финале главы рассматриваются перспективы дальнейших научных исследований, что дополнительно объясняет и подтверждает актуальность выбранной тематики представленной работы.

Учитывая редкость изучаемого исследования, объем выборки пациентов можно считать адекватным и достаточным для решения поставленных задач и достижения поставленной цели. В главе 2 «Материалы и методы» описываются принцип и порядок формирования групп пациентов, методы клинического и функционального исследования, а также лабораторные методы исследования, в частности, секвенирование нового поколения со списком генов, включенных в целевую панель при анализе генетических вариантов. В главе подробно описываются использованные молекулярно-биологические методы, а именно, создание генетических конструкций, получение индуцированных плюрипотентных клеток, культивирование клеток различных линий со стимулированной направленной дифференцировкой, методы иммуноокрашивания и морфологической характеристики клеток, проведение ПЦР в реальном времени.

Все использованные методы исследований подробно описаны и при необходимости все протоколы могут быть воспроизведены.

Собственные результаты изложены в 7 главах общим объемом в 135 страниц текста. Результаты представлены доступно, наглядно, последовательно, хорошо иллюстрированы и структурированы. При анализе



полученных результатов автор активно использует литературные источники, которые позволяют ему делать корректные заключения.

Все обсуждения полученных результатов выделены в отдельную главу, которая, по сути своей, представляет собой структурированное заключение по всей работе.

Выводы соответствуют поставленным задачам.

Список литературы современен и достаточен, содержит 446 литературных источников, включая 395 зарубежных.

Практические рекомендации многочисленны и свидетельствуют о хорошем практическом выходе работы. Они отражают особенности наблюдения и лечебной тактики у пациентов с рестриктивной кардиомиопатией в зависимости от проводимых дополнительных, в том числе медико-генетических исследований.

В автореферате, монографии и опубликованных статьях адекватно отражено основное содержание работы.

По материалам диссертационного исследования опубликовано 35 работ в журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки РФ, из них 20 – статьи в иностранных журналах, входящих в базы SCOPUS и Web of Science. Основные результаты работы представлены в виде докладов на отечественных и зарубежных конгрессах, конференциях и симпозиумах в виде устных и постерных докладов (Российский национальный конгресс кардиологов 2014-2019 г., Конгресс Европейского общества кардиологов, Frontiers in Cardiovascular Biology европейского общества кардиологов 2010-2018). Все опубликованные работы полноценно отражают основные результаты и положения выполненного диссертантом исследования.

Результаты, полученные Костаревой А. А. в ходе диссертационного исследования, содержат научные открытия и должны повлиять на улучшение процесса диагностики, лечения и определения прогноза пациентов с идиопатической рестриктивной кардиомиопатией. Использование прогностических шкал 3С-HF и MUSIC расширит возможности определения точного прогноза у данной категории пациентов. Предложенная схема проведения генетической диагностики у пациентов с идиопатической РКМП

позволит оптимизировать процесс медико-генетического консультирования в данной когорте пациентов и использовать наиболее информативные и оптимальные диагностические подходы.

Принципиальных замечаний нет. Диссертация производит очень хорошее впечатление, как фундаментальное и клиническое исследование, имеющее большую научную и практическую значимость.

### **Заключение.**

Диссертационная работа Костаревой Анны Александровны «Молекулярно-генетические механизмы развития идиопатической рестриктивной кардиомиопатии» на соискание ученой степени доктора медицинских наук является завершенной научно-квалификационной работой, в рамках которой автором предложено решение крупной научной проблемы, имеющей важное значение в области диагностики и определения прогноза генетически-обусловленных заболеваний сердца. 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 и соответствует паспортам специальностей, а именно пунктам по кардиологии: 3.Заболевания миокарда, перикарда и эндокарда; 13.Современные инвазивные и неинвазивные диагностические технологии у больных с сердечно-сосудистой патологией; 14.Медикаментозная и немедикаментозная терапия сердечно-сосудистых заболеваний и пунктам по медицинское генетике: 1. Молекулярные и цитологические основы наследственности. 10. Генетическая и клеточная инженерия. Трансгенные организмы. 17. Генетика человека. Медицинская генетика. Наследственные болезни. Генотоксикология. Генотерапия. Диссертация может быть рекомендована для публичной защиты, а ее автор – Костарева Анна Александровна – заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология и 03.02.07 – генетика.



Отзыв заслушан, обсужден и одобрен на совместном заседании  
отделения артериальных гипертензий НИИ кардиологии Томского НИМЦ и  
лаборатории популяционной генетики НИИ генетики Томского НИМЦ,  
протокол № 018 . 1 , от 29.10. 2019 г.

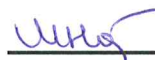
Ведущий научный сотрудник  
отделения артериальных гипертензий  
Научно-исследовательского  
института кардиологии Федерального  
государственного бюджетного  
научного учреждения «Томский  
национальный исследовательский  
медицинский центр Российской  
академии наук»  
доктор медицинский наук



подпись

Рипп Татьяна Михайловна

Руководитель лаборатории  
популяционной генетики  
Научно-Исследовательского  
института медицинской генетики  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Томский национальный  
исследовательский медицинский  
центр Российской академии наук»  
доктор медицинский наук



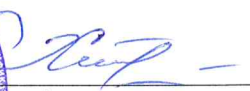
подпись

Назаренко Мария Сергеевна

Подписи

Рипп Т.М.  
Назаренко М.С. заверяю.

Ученый секретарь Томского НИМЦ  
кандидат биологических наук  
Ирина Юрьевна Хитринская



подпись

29.10.2019

дата