

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук  
Болдуевой Светланы Афанасьевны  
на диссертацию Татариновой Татьяны Николаевны  
«Роль мутаций гена *NOTCH1* в развитии коарктации аорты»,  
представленную на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук по специальности 14.01.05 – кардиология  
(медицинские науки).

**Актуальность темы выполненной работы и её связь с соответствующими отраслями науки и практической деятельности.**

Особое место врожденных пороков сердца (ВПС) в структуре сердечно-сосудистых заболеваний связано не только с широкой их распространенностью среди пациентов детского возраста, но и с неуклонным ростом количества взрослых пациентов с ВПС, нуждающихся в постоянном медицинском наблюдении и оказании специализированной медицинской помощи на этапе планирования беременности. Таким образом, указанная тенденция затрагивает все возрастные группы, что обуславливает высокую медико-социальную значимость изучаемой проблемы. Несмотря на совершенствование методов диагностики и лечения ВПС, частота их выявления во внутриутробном периоде по результатам скринингового обследования составляет около 30% и только в специализированных учреждениях может достигать 54%.

Коарктация аорты занимает четвертое по распространенности место среди ВПС. Высокая частота критических состояний в постнатальном периоде и сложность внутриутробной диагностики коарктации аорты диктует необходимость поиска альтернативных методов, позволяющих выявить группу лиц, имеющих высокий риск рождения ребенка с данной патологией. Поэтому совершенствование методов диагностики коарктации аорты с целью раннего ее хирургического лечения представляется несомненно актуальным.

В настоящее время метод ультразвукового исследования далеко не

всегда позволяет своевременно поставить диагноз. Лишь в тех наблюдениях, когда имеются выраженные гемодинамические нарушения, приводящие к значительным анатомическим изменениям в виде гипоплазии левого желудочка, диспропорции желудочков сердца, увеличения диаметра легочной артерии диагноз с большой вероятностью может быть поставлен антенатально. Однако точность диагностики коарктации аорты у плода с помощью ультразвукового исследования не превышает 27%.

На этом фоне новые методы диагностики, основанные на достижениях молекулярной биологии и генетики, позволят не только уточнить механизмы возникновения ВПС, которые во многом остаются неизвестными до настоящего времени, но и будут способствовать их раннему выявлению. Исследования последних лет наглядно демонстрируют значение генетических факторов в формировании ВПС, однако конкретные гены до сих пор не найдены.

В настоящее время описаны мутации более 30 генов, приводящих к возникновению изолированных ВПС. Влияние генетических факторов на формирование аномалий выходного отдела левого желудочка, в том числе и коарктации аорты, подтверждается высокой частотой встречаемости этой патологии среди близких родственников. Однако в настоящее время отсутствуют работы, доказывающие влияние конкретных генов на развитие коарктации аорты, нет альтернативных методов диагностики данного порока в антенатальном периоде, несмотря на трудности его диагностики с помощью эхокардиографии плода. Отсутствуют также данные о факторах риска, способствующих развитию исследуемого заболевания.

В связи с этим чрезвычайно интересным представляется исследование гена *NOTCH1*, участвующего на раннем этапе развития сердца и сосудов в эмбриональном периоде.

Для доказательной базы ассоциации варианта или мутации гена с развитием заболевания при проведении молекулярно-генетических исследований особенно важно обследовать достаточное количество человек в контрольной группе, прошедших функциональное обследование, тем самым

исключив наличие гемодинамически незначимых пороков сердца, таких как двустворчатый клапан аорты без нарушения функции клапана. Однако, проводимые ранее молекулярно-генетические исследования по изучению роли гена *NOTCH1* у пациентов с аномалиями выходного тракта левого желудочка не отвечали данному требованию, что могло привести к ложным результатам исследования. Кроме того, несомненно важным представляется выявление факторов риска, влияющих на формирование пороков сердца.

Таким образом, выполнение работы, ставящей своей целью изучение вклада генетической составляющей, а также факторов, предрасполагающих к развитию коарктации аорты, свидетельствует о несомненной актуальности настоящего диссертационного исследования.

#### **Научная новизна, теоретическая и практическая значимость.**

В проведенном исследовании впервые представлены данные, полученные путем прямого секвенирования 10 экзонов гена *NOTCH1* у 200 человек контрольной группы, у которых было полностью исключено наличие гемодинамически незначимых пороков сердца.

В работе выявлено несколько новых вариантов гена *NOTCH1* как у пациентов с коарктацией аорты, так и в контрольной группе.

Впервые продемонстрированы разные варианты замен гена *NOTCH1* у пациентов с сочетанием коарктации аорты и двустворчатого клапана аорты в зависимости от нарушения функции аортального клапана.

Впервые была установлена связь варианта R1279H гена *NOTCH1* с развитием коарктации аорты: было показано, что замена R1279H может представлять собой ассоциированный с болезнью аллель и при наличии неблагоприятных факторов способствовать развитию заболевания.

В проведенном исследовании впервые была предложена математическая модель прогнозирования развития коарктации аорты на основании исследования замен гена *NOTCH1*.

Следует отметить, что группа пациентов с коарктацией аорты в количестве 51 человека, которым было выполнено молекулярно-

генетическое исследование (секвенирование гена *NOTCH1*) в настоящее время является самой многочисленной.

Проведенное исследование служит дополнительным подтверждением существования наследственной предрасположенности к развитию коарктации аорты, а также объясняет частую ассоциированность данного порока с другими врожденными пороками сердца.

Проведенное молекулярно-генетическое исследование значительно дополняет представления об этиологии коарктации аорты и аномалий отводящего тракта левой половины сердца, в том числе двустворчатого клапана аорты. Полученные данные позволили расширить представления о генетической составляющей патологии выходного отдела левого желудочка, главным образом коарктации аорты и двустворчатого клапана аорты.

Материалы исследований могут служить основой для разработки алгоритма медико-генетического консультирования лиц с аномалиями развития выходного отдела левого желудочка.

Основные теоретические положения работы могут быть использованы для создания научно-обоснованных рекомендаций при планировании беременности.

В проведенном исследовании выявлено, что сочетание коарктации с двустворчатым клапаном аорты наиболее часто наблюдается у пациентов мужского пола по сравнению с группой лиц, имеющих изолированный вариант коарктации аорты. Показано, что у пациентов с коарктацией и двустворчатым клапаном аорты чаще встречается аномалия митрального клапана. Вместе с тем, достоверных различий в локализации, степени сужения, наличия рекоарктации аорты, сочетания с гипоплазией аорты и другими врожденными пороками сердца (субаортальный стеноз, септальные дефекты, открытый артериальный проток) у пациентов с коарктацией аорты в изолированном ее варианте и в сочетании с двустворчатым клапаном аорты не получено.

Практическое значение диссертации также заключается в выявлении факторов риска, влияющих на течение беременности и формирование

коарктации аорты у плода. Было проанализировано значение профессиональных вредностей у родителей, наличие отягощенного акушерского анамнеза и экстрагенитальной патологии у матери, наличие отягощенной наследственности по врожденным порокам сердца у обоих родителей и влияние этих факторов как по отдельности, так и их сочетаний на развитие коарктации аорты у ребенка, что позволило выявить группу лиц, имеющих высокий риск рождения ребенка как с исследуемым пороком, так и с развитием сочетанной врожденной патологии выходного тракта левого желудочка. В результате исследования установлено, что отягощенная наследственность по ВПС в сочетании с профессиональными вредностями родителей увеличивают риск развития коарктации аорты почти в 2 раза, тогда как отягощенный акушерский анамнез не влияет на формирование заболевания. Наличие отягощенной беременности и экстрагенитальной патологии у матери ведут к увеличению частоты возникновения врожденных аномалий выходного отдела левого желудочка у ребенка.

Установлено, что у пациентов с коарктацией аорты, родители которых имели врожденные пороки сердца (в том числе двустворчатый клапан аорты), частота развития сочетанной врожденной патологии выходного тракта левого желудочка выше.

Выявление факторов риска, способствующих развитию коарктации аорты, позволило выделить группу лиц, имеющих высокий риск рождения ребенка с данной патологией, и обосновать необходимость медико-генетического консультирования и эхокардиографического обследования будущих родителей, в том числе отца ребенка. В комплексе скринингового обследования новорожденных, родители которых имеют аномалии выходного отдела левого желудочка, и в частности двустворчатый клапан аорты, рекомендовано проведение эхокардиографического исследования, вне зависимости от отсутствия у них патологии по данным внутриутробной диагностики сердца плода. При проведении медико-генетического консультирования пациентов с двустворчатым клапаном аорты необходимо детальное уточнение анатомии и функции клапана.

### **Степень достоверности и апробация результатов исследования .**

Степень достоверности полученных в работе результатов определяется большим объемом материала исследования: для получения результатов было обследовано 68 пациентов с коарктацией аорты и их 77 родителей, 60 детей и 120 родителей клинической (детской) контрольной группы, 200 человек контрольной группы для молекулярно-генетического исследования.

Степень достоверности результатов также определяется использованием современных молекулярно-генетических методов исследования: секвенирование гена *NOTCH1* у 51 пациента с коарктацией аорты и у 200 человек контрольной группы. В настоящее время исследуемая группа пациентов является самой многочисленной, а контрольная группа - единственной, прошедшей эхокардиографическое исследование для исключения ВПС.

Кроме того, достоверность подтверждена адекватными методами статистической обработки данных.

Полученные результаты соответствуют поставленным задачам.

Материалы исследования представлены в виде докладов и обсуждены на ведущих российских и зарубежных конгрессах.

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, из них 3 статьи в рецензируемых отечественных и зарубежных журналах.

**Структура и содержание работы.** Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов практических рекомендаций и списка литературы, который включает в себя 5 отечественных и 153 зарубежных источников. Диссертация изложена на 97 страницах машинописного текста, содержит 10 таблиц и 8 рисунков.

**Во введении** автором обоснована актуальность выбранной темы, определены цели и задачи исследования, показана научная и практическая значимость работы, представлены основные положения, выносимые на защиту.

**В первой главе «ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ»** представлены литературные сведения, характеризующие частоту встречаемости

врожденных пороков сердца, в том числе и коарктации аорты, актуальность проблемы и трудности внутриутробной диагностики коарктации аорты, факторы риска развития врожденных пороков сердца, анатомические особенности и патофизиология коарктации аорты. Кроме того, подробно освещены аспекты эмбриологии сердца и сосудов, формирования дуги аорты, а также исторические представления об этиологии коарктации аорты.

**Вторая глава «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ»** посвящена методической части. В главе приведены сведения об используемых современных методах исследований, в том числе клинических (сбор подробного семейного анамнеза референтной и контрольной групп), инструментальных (эхокардиографическое исследование - выполнено у 68 пациентов и 77 родителей, мультиспиральная компьютерная томография аорты, аортография); подробно описано выполнение молекулярно-генетических исследований у 51 больного с коарктацией аорты и 200 пациентов контрольной группы с обоснованием выбора секвенированных участков гена, с указанием списка праймеров, реактивов, аппаратуры, а также баз данных секвенированных геномов, используемых для сравнительного анализа ДНК эталонные последовательности гена *NOTCH1*. В статистической обработке полученных данных были использованы такие современные методы, как критерий независимости качественных признаков хи-квадрат, коэффициенты неопределенности, расширение пространства бинарных признаков при помощи логических операций сложения, умножения, и введения линейных комбинаций над конечным полем характеристики, дискриминантный анализ.

Кроме того, эхокардиографическое исследование выполнено всем пациентам клинической (60 детей и 120 родителей) и генетической контрольных групп (200 человек), что позволило провести максимально «чистое» исследование, полностью исключив наличие гемодинамически незначимых ВПС в контроле.

**В третьей главе «РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ»** приведена клиническая характеристика пациентов с

коарктацией аорты и их родителей в целом, а также в зависимости от наличия или отсутствия у пациентов с коарктацией двустворчатого клапана аорты. Дана подробная клиническая характеристика детской и взрослой контрольных групп с указанием акушерского, гинекологического и семейного анамнеза для клинической (детской) контрольной группы. На основании собранного семейного анамнеза определены факторы риска развития коарктации аорты. В главе представлены подробные результаты секвенирования гена *NOTCH1* у больных с коарктацией аорты и у пациентов контрольной группы, для удобства сгруппированные в обширную таблицу. На основании собранного клинического и генетического материала автором охарактеризованы пациенты с коарктацией аорты в зависимости от наличия или отсутствия у них аминокислотной замены R1279H в гене *NOTCH1*. Для наглядности продемонстрированы графические варианты полученных замен в исследуемом гене. В работе отдельно выделены результаты секвенирования гена *NOTCH1* у пациентов с сочетанием коарктации аорты и двустворчатого клапана аорты.

**Четвертая глава «ОБСУЖДЕНИЕ»** диссертантом обсуждаются позитивные и негативные аспекты существующих ранее теорий о причинах возникновения коарктации аорты. Дается обоснование разделения пациентов с коарктацией аорты на две основные группы в зависимости от наличия или отсутствия у них двустворчатого клапана аорты. Обсуждается важность открытия клеток вторичного сердечного поля, их влияние на эмбриогенез сердца и сосудов и регулирование процессов эмбриогенеза с помощью различных сигнальных путей, в том числе Notch-сигнального пути, а также связь нарушений этих процессов с некоторыми врожденными пороками сердца. В главе автор отмечает связь развития двустворчатого клапана аорты с нарушением эндотелиально-мезенхимального перехода, важным регулятором которого является Notch1. Диссертант выделяет клинические факторы, свидетельствующие в пользу влияния сигнального пути Notch на развитие коарктации аорты, а также цитирует результаты проведенных зарубежных исследований по поиску мутаций в гене *NOTCH1* у пациентов с



аномалиями развития выходного отдела левого желудочка. В работе проводится сравнительный анализ имеющихся зарубежных данных исследования в гене *NOTCH1* с полученными собственными результатами. Дается обоснование выбора секвенированных экзонов гена *NOTCH1*, а также объясняется необходимость анализа прилежащих к ним интронных участков. Автором обсуждаются полученные результаты по выявлению врожденных пороков сердца у родителей пациентов с коарктацией аорты в ходе проведения им эхокардиографического исследования. Диссертант проводит анализ статистического сравнения пациентов с коарктацией аорты и детской контрольной группы, что позволяет ему выделить дополнительные факторы риска развития исследуемого заболевания. Автором подробно обсуждаются полученные результаты генетического исследования и их связь с развитием коарктации аорты. В главе приводятся характеристики типов двустворчатых клапанов аорты, обсуждаются вероятности их разного эмбрионального происхождения, выдвигаются гипотезы связи мутаций в генах, в том числе в гене *NOTCH1* с развитием дисфункций бicuspidального аортального клапана; подробные рассуждения подтверждаются полученными в исследовании данными о наличии разных вариантов замен гена *NOTCH1* у пациентов с аортальной недостаточностью и с нормальной функцией двустворчатого клапана, что также может свидетельствовать в пользу существования разных источников происхождения бicuspidальных клапанов аорты.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями для подобных работ. Выводы вытекают из полученных данных и в достаточной степени аргументированы.

Содержание автореферата и опубликованных работ соответствует материалам диссертации.

Оценивая работу в целом необходимо отметить ее целостность и последовательность изложения, современность использованных методов исследования, научную новизну и практическую ценность. Диссертация написана хорошим литературным языком, производит очень хорошее

впечатление.

### **Вопросы и замечания.**

При общей положительной оценке работы Татариновой Т.Н. представляется необходимым высказать ряд замечаний:

1. В работе выполнено исследование только части гена *NOTCH1*. Не всем пациентам было выполнено молекулярно-генетическое исследование.

2. Делая акцент на пренатальную диагностику и медико-генетическое консультирование семей, особенно интересным было бы выполнить молекулярно-генетическое обследование у родителей пациентов с коарктацией аорты, что во многом могло бы усилить рецензируемую работу.

Приведенные замечания не снижают общей положительной оценки работы.

В ходе изучения диссертационной работы Т.Н. Татариновой, возник ряд вопросов:

1. Как в Вашем понимании объяснить, почему при наличии мутаций/замен в одном и том же гене *NOTCH1* развиваются разные варианты аномалий выходного отдела левого желудочка?

2. Насколько целесообразно, с Вашей точки зрения, включить в алгоритм пренатальной диагностики пациентов с аномалиями выходного отдела левого желудочка молекулярно-генетическое исследование гена *NOTCH1*?

3. Каковы основные причины рекоарктации аорты в Вашей выборке пациентов?

### **Заключение.**

Диссертация Татариновой Татьяны Николаевны, на тему «Роль мутаций гена *NOTCH1* в развитии коарктации аорты», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.05 – кардиология (медицинские науки), является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной для кардиологии научно-практической задачи - уточнение механизмов развития коарктации аорты и совершенствование методов ее

диагностики. По актуальности темы, глубине и объему проведенных исследований, объективности анализа материала и выводов, научной новизне и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор - Татарина Татьяна Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.05 – кардиология (медицинские науки).

Официальный оппонент  
Заведующая  
кафедрой факультетской терапии  
ФГБОУ ВО «Северо-Западный  
государственный медицинский  
университет им. И.И. Мечникова»  
Минздрава России  
д.м.н., профессор  
Контактные данные:  
191015 г. Санкт-Петербург, Кирочная ул., 41  
тел. +7(921)941-66-70  
email svetlanaboldueva@mail.ru



Болдуева С.А.

Проректор по науке и инновационной деятельности  
ФГБОУ ВО «Северо-Западный  
государственный медицинский  
университет им. И.И. Мечникова»  
Минздрава России  
д.м.н., профессор



Силин А.В.

28.04.2016