УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»
доктор медицинских наук, профессор, академик РАН
Котенко Константин Валентинович
«9» января 2025 г.

# ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского» о научно-практической значимости на диссертационную работу Шахтшнейдер Елены Владимировны «Молекулярно-генетические исследования гиперхолестеринемии в европеоидной популяции Сибири», представленную в диссертационный совет 24.1.215.03 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.7 Генетика (медицинские науки), 3.1.20 Кардиология.

## Актуальность темы выполненной работы

Гиперхолестеринемия является одним из модифицируемых факторов риска атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний, которые занимают ведущее место в структуре преждевременной смертности как в Российской Федерации, так и в различных странах мира. Использование молекулярно-генетических технологий позволило идентифицировать более 200 генов, белковые продукты которых могут обусловливать моногенные, олигогенные и полигенные формы дислипидемий. Спектр генетических причин дислипидемий постоянно расширяется, и для их выявления могут быть полезны методы высокопроизводительного секвенирования. Несмотря на их широкое применение, у 30-40% пациентов с моногенными формами дислипидемии, в частности, семейной гиперхолестеринемии, не удается определить первичный генетический дефект, что свидетельствует о

необходимости широких эпидемиологических и генетических исследований в этой области. Изучение особенности генетической структуры первичных дислипидемий в различных популяциях позволяет оценить удельный вес как уникальных менделирующих генетических вариантов с выраженным влиянием на метаболизм липидов, так и комбинаций более частых генетических факторов с умеренным эффектом (олигогенных и полигенных). Анализ связи генетических характеристик пациента с биохимическими и фенотипическими проявлениями заболевания является одним из нерешенных вопросов современной липидологии. Таким образом, диссертационная работа Шахтшнейдер Елены Владимировны, цель которой заключается в анализе вариабельности генов метаболизма липидов и их ассоциации с нарушениями липидного обмена в популяционной и клинических группах Западной Сибири, является актуальной.

**Связь диссертационной работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства**

Диссертационная работа Шахтшнейдер Е.В. посвящена изучению вариабельности генов метаболизма липидов и их ассоциации с нарушениями липидного обмена в популяционной группе, у пациентов с семейной гиперхолестеринемией и у пациентов с коронарным атеросклерозом в Западной Сибири и дополняет знания о формировании нарушений липидного обмена у населения в разных регионах России.

Проведенное исследование выполнено в рамках:

1. Программы бюджетной темы «Молекулярно-генетические и молекулярно-биологические механизмы формирования липидных факторов риска заболеваний терапевтического профиля в Сибири (№041, 12.12.2008, рук. Воевода М.И.);
2. Бюджетной темы государственного задания «Молекулярно-генетические механизмы развития метаболических нарушений при

моногенных формах распространенных заболеваний человека» (№АААА-А19-119100990053-4, 28.12.2019 г., рук. Шахтшнейдер Е.В.);

3. При поддержке гранта Российского научного фонда (№22-25-00743), рук. проекта Шахтшнейдер Е.В.;

4. При поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (№19-015-00458а), рук. проекта Шахтшнейдер Е.В.;

5. При поддержке гранта Президента РФ для молодых кандидатов наук (МК-2666.2009.7), рук. проекта Шахтшнейдер Е.В.;

6. При поддержке гранта Федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002-2006 годы – РИ-19.0/002/054 «Анализ мутаций гена рецептора липопротеинов низкой плотности, ассоциированных с нарушениями липидного обмена» 2005 г., рук. проекта Шахтшнейдер Е.В.;

7. При поддержке гранта Федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002-2006 годы – РИ-19.0/001/373 «Молекулярно-генетические механизмы изменчивости уровня липидов крови в популяции человека» 2006 г., рук. проекта Шахтшнейдер Е.В.;

8. При поддержке гранта Мэрии города Новосибирска для молодых ученых 2007 г., рук. проекта Шахтшнейдер Е.В.

**Научная новизна исследования и полученных результатов**

Полученные результаты диссертационной работы характеризуются научной новизной и расширяют имеющиеся представления о распространенности вариантов изученных генов в популяционной группе европеоидного населения Западной Сибири, их ассоциации с липидным профилем и индексом атерогенности. Впервые определена ассоциация вариантов изучаемых генов с атерогенным субфракционным липидным профилем. В диссертационной работе с помощью применения комплекса современных молекулярно-генетических методов у пациентов с семейной

гиперхолестеринемией выявлены редкие, в том числе новые, варианты в генах липидного обмена, с высоким классом патогенности. Использование метода полногеномного секвенирования ДНК позволило оценить представленность генетических вариантов в малоизученных генах *PLD1, SIDT1* и *LRP1B,* в группе пациентов с фенотипом семейной гиперхолестеринемии, а также выделить кандидатные замены для проведения дальнейших исследований. Анализ транскриптомных данных, в том числе, дифференциальной экспрессии генов липидного обмена, вовлеченных в процесс стабилизации/дестабилизации атеросклеротической бляшки, могут быть использованы для дальнейшего изучения молекулярных факторов, отражающих процессы, связанные с дестабилизацией бляшек, особенно у пациентов с бессимптомным течением заболевания.

**Значимость научных результатов для науки и практики**

В результате проведенного исследования получены фундаментальные данные, расширяющие знания о полиморфизме генов, контролирующих липидный обмен, в норме и патологии, изучен спектр молекулярно-генетических причин формирования гиперхолестеринемии. Полученные в диссертации результаты могут быть использованы для совершенствования ранней диагностики, персонализированной терапии и первичной профилактики атерогенных форм дислипидемии.

Научно-практическая значимость состоит в том, что для ранней диагностики и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с диагнозом семейная гиперхолестеринемия, целесообразно использование таргетного секвенирования для верификации семейной гиперхолестеринемии молекулярно-генетическими методами. Рекомендовано включение в таргетную панель не только генов *LDLR, APOB, PCSK9, LDLRAP1*, но и генов *ABCG5, APOA5, APOC3, APOE, LPL, SREBF1*:

Рекомендовано направление на молекулярно-генетическое исследование с использованием таргетного секвенирования пациентов, не

только с 6 и более баллами по критериям Dutch Lipid Clinic Network, но и с 3-5 баллами для ранней диагностики семейной и комбинированной гиперхолестеринемии. Широкое внедрение в практику метода мультиплексной амплификации лигазно-связанных проб для определения делеций и дупликаций в гене *LDLR* позволит дополнительно выявлять до 2-3% пробандов с семейной гиперхолестеринемией.

Для диагностики и профилактики атерогенной гиперлипидемии III типа обосновано включение генотипирования rs429358 и rs7412 (ε2, ε3, ε4) гена *APOE* в оценку риска сердечно-сосудистых осложнений. При выявлении у пациента генотипа ε2/ε2 гена *APOE* рекомендован регулярный контроль липидного и гликемического профилей. При выявлении у пациента генотипа ε4/ε4 гена *APOE* может быть рекомендована ранняя профилактика ИБС.

## Структура и содержание работы

Диссертационная работа оформлена в традиционном формате и изложена на 232 страницах. Библиографический указатель включает 381 источник и представляет анализ работ как российских, так и зарубежных авторов. Для иллюстрации работы оформлены 24 таблицы и 11 рисунков. Автореферат отражает основные результаты диссертационной работы.

## Личный вклад автора

Диссертационная работа представляет собой самостоятельное научное исследование, проведенное с использованием современных методов исследования. Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции и дизайна исследования, наборе материала, выполнении молекулярно-генетических исследований. Созданы и зарегистрированы базы данных. Автором разработана таргетная панель генов для изучения нарушения липидного обмена, представленная в работе, выполнена статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных данных. В соавторстве были написаны и опубликованы печатные работы, в которых отражены полученные

результаты. Результаты исследования представлены автором на российских и международных научных мероприятиях.

## Рекомендации по дальнейшему использованию результатов и выводов, полученных в исследовании

Фактические материалы и теоретические положения диссертации могут использоваться в работе научно-исследовательских коллективов, в учебном процессе при обучении студентов, ординаторов и аспирантов медицинских ВУЗов, последипломном образовании врачей.

Материалы, выводы и рекомендации, полученные в данном исследовании, используются в учебном процессе при подготовке ординаторов и аспирантов в Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиале ИЦиГ СО РАН.

Результаты исследования применяются в практике Городского научно-практического липидного центра г. Новосибирска.

Практические рекомендации и выводы диссертационной работы используются в практической работе Государственного автономного учреждения Республики Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница №3» на консультативном приеме врачей-кардиологов. На основании представленного исследования формируется регистр пациентов Республики Саха (Якутия) с гиперхолестеринемией для молекулярно-генетической диагностики наследственных форм заболевания в популяциях коренных народов Севера.

С учетом научной и практической значимости рекомендуется более широкое использование результатов исследования при обучении врачей и в работе лечебно-профилактических медицинских учреждений.

## Печатные работы

Автор имеет достаточное количество печатных работ по теме исследования – 63, из них 20 статей в рецензируемых журналах,

рекомендованных Перечнем ВАК Российской Федерации, и 6 статей в зарубежных рецензируемых журналах, в том числе 4 статьи, входящих в первый квартиль (Q1) Journal Citation Reports международной реферативной базы данных и систем цитирования Web of Science. Автором получены 4 свидетельства о государственной регистрации баз данных.

**Достоверность полученных результатов, выводов и практических рекомендаций**

Диссертационная работа Шахтшнейдер Е.В. выполнена на хорошем научно-методическом уровне. Дизайн исследования соответствует критериям доказательной медицины, сформированы достаточные по численности исследуемые группы, качественно проведены лабораторные исследования по протоколам международных проектов. Статистические методы адекватны поставленным задачам, статистическая обработка фактического материала включала создание баз данных, автоматизированную проверку качества подготовки информации и статистический анализ с использованием пакета прикладных статистических программ.

Патогенность каждого впервые выявленного генетического варианта оценивалась в соответствии с российскими (РОМГ2018) и международными (ACMG2015) рекомендациями. Номенклатура выявленных вариантов приведена согласно рекомендациям Sequence Variant Nomenclature (http://varnomen.hgvs.org (25.05.2021)).

Выдвигаемые научные положения и выводы аргументированы фактическими данными. Результаты исследования опубликованы в реферируемых изданиях и не получили критических замечаний.

**Достоинства и недостатки в содержании и оформлении работы**

К достоинствам работы Шахтшнейдер Е.В. относятся большой объём фактического материала и комплексный характер проведенного исследования, тщательный дизайн и продуманный статистический инструментарий, который

делает полученные выводы высоко достоверными. В работе проведено комплексное сопоставление генетических и биохимических данных пациентов с дислипидемиями и лиц контрольной группы. Крайне важно, что предложены рекомендации по более раннему генетическому обследованию пациентов с подозрением на первичный характер дислипидемий («возможная СГХС»), для выявления генетической предрасположенности к атеросклерозу на доклиническом уровне, что позволить проводить первичную профилактику его жизнеугрожающих осложнений. С методической точки зрения важной частью работы является включение в дизайн исследования метода MLPA, который позволяет выявлять микроструктурные перестройки, в отношении которых высокопроизводительное секвенирование является малоэффективным. На наш взгляд, этот метод является необходимым этапом обследования, если методы секвенирования гена LDLR не привели к выявлению мутаций.

К недостаткам работы можно отнести отсутствие единообразия в оценке класса патогенности выявленных генетических вариантов. В разделе «Материалы и Методы» указано, что для всех редких вариантов определялся класс патогенности согласно современным рекомендациям. Однако в тексте автореферата и диссертации эта часть работы освещена очень скромно, в представлении данных нет единообразия. Для некоторых вариантов класс патогенности указан с использованием современных критериев (вероятнее всего, использовались и сама комбинация выбранных критериев указана в тексте). Для других вариантов класс патогенности проставлен на основании имеющихся описаний в открытых базах данных, хотя большой интерес представляло бы сравнение классов патогенности вариантов, указанных в ClinVar, и полученных при использовании рекомендаций «The Clinical Genome Resource (ClinGen) Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel consensus guidelines for LDLR variant classification, 2021». Хотелось бы также пожелать большей строгости в использовании современной терминологии. Термин «транскриптом» в настоящее время является более употребительным

в отношении секвенирования тотальной РНК и кДНК, чем полногеномное секвенирование (этот термин чаще используется в отношении секвенирования ДНК). Однако эти особенности применения терминологии, также, как и небольшое количество опечаток, не снижают научного и клинического значения выполненной работы.

В порядке дискуссии хотелось бы обсудить вопрос:

1. Насколько контрольная выборка, сформированная из взрослого населения города Новосибирска, крупного мегаполиса, сформированного под влиянием комплексных культурно-исторических и демографических процессов, является репрезентативной для популяции Западной Сибири, в особенности для её коренных народов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Шахтшнейдер Елены Владимировны «Молекулярно-генетические исследования гиперхолестеринемии в европеоидной популяции Сибири», выполненная под руководством д.м.н., профессора, академика РАН М.И. Воеводы, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой на основании полученных результатов, сформулированы теоретические положения и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в развитии перспективного направления молекулярно-генетических исследований в кардиологии – комплексном исследовании формирования феномена гиперхолестеринемии, как на популяционном, так и на индивидуальном уровне, и ассоциированных с ним заболеваний и осложнений, что имеет важное теоретическое и практическое значение.

По своей актуальности, научной новизне, степени достоверности и практической значимости, представленная работа соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842,

предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Шахтшнейдер Елена Владимировна, заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.7 Генетика (медицинские науки), 3.1.20 Кардиология.

Отзыв обсуждён на заседании лаборатории медицинской генетики научно-клинического центра № 1 Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», протокол № 18 от «24» декабря 2024 г.

Заведующая лабораторией
медицинской генетики
научно-клинического центра № 1
ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»
доктор медицинский наук,
профессор, _____ Заклязьминская Елена Валерьевна

Подпись д.м.н., профессора Заклязьминской Е.В. «заверяю»
Ученый секретарь ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского»
д.м.н., доцент _____ Михайлова Анна Андреевна

Контактная информация:
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского»
119991, Россия, Московская область, г. Москва, Абрикосовский пер. 2
Телефон +7 499 246 63 69, +7 495 708 33 03
Web-сайт www.med.ru