

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ИМЕНИ В. А. АЛМАЗОВА»



197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2
Тел/факс +7 (812) 702-37-30

е-mail: info@almazovcenter.ru

ОГРН 1037804031011 ИНН 7802030429 КПП 781401001

26.04.2024 № 02-06-5009/24

на № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
по научной работе Федерального
государственного бюджетного
учреждения «Национальный
медицинский исследовательский
центр имени В.А. Алмазова»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации доктор
медицинских наук, профессор
академик РАН



А.О. Конради

26.04.2024г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертации Валиахметова Наиля Раушановича «Вариабельность генов саркомерных белков при гипертрофии миокарда различного генеза», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика

Актуальность темы выполненной работы

Патология миокарда – первичная гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) и вторичная гипертрофия в результате артериальной гипертензии, несмотря на то, что первое является одним из наиболее частых наследственных заболеваний сердечно-сосудистой системы, а второе относится к распространенным заболеваниям многофакторной природы, характеризуются высокой медико-социальной значимостью, клиническим полиморфизмом, генетической гетерогенностью и неполной пенетрантностью менделевских форм, что осложняет их диагностику, лечение и прогноз.

Кроме патогенных вариантов, расположенных в экзонах генов саркомерных белков, приводящих к развитию тяжелых форм ГКМП, существует большое количество вариантов, локализованных в интронах и регуляторных регионах, которые также обладают функциональной значимостью. При этом изучению их роли в развитии и течении патологии миокарда уделяется значительно меньше внимания.

Таким образом, в отношении гипертрофии миокарда различного генеза актуальным является поиск и оценка патогенности выявляемых вариантов в ходе генодиагностики. Разработка новых подходов для описания нуклеотидной изменчивости генов, ответственных за развитие той или иной патологии, выявление функционально значимых отдельных генетических вариантов и их комбинаций является важным направлением на современном этапе развития кардиогенетики, что обеспечит более глубокое понимание патогенетических механизмов развития заболеваний, а также увеличит эффективность и точность ранней диагностики менделевских кардиомиопатий.

Научная новизна работы

В диссертационной работе Валиахметова Н.Р. получены новые знания о полной последовательности пяти генов саркомерных белков (*MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3* и *TPM1*), в том числе в интронах, у пациентов с ГКМП и вторичной гипертрофией миокарда при артериальной гипертензии. Обнаружены и охарактеризованы новые клинически значимые варианты в генах *MYBPC3* и *MYH7*, являющиеся причиной развития ГКМП. В генах *TPM1* и *TNNT2* выявлены гаплотипы, образованные несколькими потенциально функциональными некодирующими вариантами, как у пациентов с ГКМП, так и при гипертрофии миокарда в результате артериальной гипертензии. Впервые показано, что технология мономолекулярного секвенирования имеет

потенциал для диагностики ГКМП, особенно в случае необходимости фазирования кандидатных вариантов, что имеет важное практическое значение для медико-генетического консультирования, а также является основой для прогнозирования степени гипертрофии миокарда и осложненного течения данной патологии. Выявлены ассоциации генотипов и гаплотипов, которые образованы частыми вариантами генов саркомерных белков, с количественными характеристиками гипертрофии миокарда у пациентов с ГКМП.

**Значимость выводов и рекомендаций, полученных в диссертации,
для науки и практики**

Разработанный подход мономолекулярного секвенирования и анализа полной нуклеотидной последовательности генов саркомерных белков может быть использован для идентификации клинически значимых вариантов, что, в конечном итоге, повысит точность диагностики ГКМП. Данные, полученные в отношении развития вторичной гипертрофии миокарда в результате артериальной гипертензии, могут быть использованы для определения персонифицированного подхода к оценке риска развития и прогноза заболевания у пациентов с артериальной гипертензией. Обнаруженные закономерности интронной и гаплотипической изменчивости в генах саркомерных белков при гипертрофии миокарда различного генеза являются основой для дальнейших исследований ремоделирования сердца, как в норме, так и при патологии. Разработанные алгоритмы для анализа интронной изменчивости генов можно будет применить и к другим заболеваниям.

**Степень обоснованности научных положений и выводов,
сформулированных в диссертации, их достоверность**

Работу отличает четкий, лаконичный и структурированный дизайн исследования, высокий методический уровень выполнения поставленных

задач, полученные результаты соответствуют поставленной цели, представленные результаты приведены в полном объеме.

Молекулярно-генетические методы включали секвенирование ДНК методами NGS (с использованием собственной панели основных генов ГКМП, готовой кардиологической панели генов, а также экзомного секвенирования) и мономолекулярного нанопорового секвенирования, а также методом секвенирования ДНК по Сэнгеру. Биоинформатическая обработка полученных данных осуществлена с помощью широкого спектра современных методов анализа выявленных генетических вариантов. Статистический анализ проведен с использованием релевантных статистических критериев. Выбранные подходы секвенирования ДНК и анализа данных соответствуют уровню современной генетики и позволяют интегрировать полученные результаты с данными других исследовательских групп.

По теме исследования опубликовано 6 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных для публикации основных результатов кандидатских и докторских диссертаций (3 – в периодических научных журналах, индексируемых в Web of Science или Scopus, одна статья в журнале уровня Q1). Результаты работы представлены на всероссийских и международных конференциях.

Структура работы

Научно-исследовательская работа Валиахметова Н.Р. изложена на 201 странице машинописного текста, содержит 13 таблиц и 35 рисунков. Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, трех глав: «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты и обсуждение», заключения, выводов и 5 приложений. Список литературы включает 315 источников, из них 25 отечественных и 290 иностранных.

В разделе «**Введение**» подробно обоснована актуальность проведения диссертационного исследования, охарактеризована степень научной разработанности темы, заявлены цель и задачи работы, описаны новизна,

теоретическая и практическая значимость. Представлена методология исследования и положения, выносимые на защиту, отображено личное участие автора, приведена информация о публикациях.

Глава «**Обзор литературы**» включает в себя три подглавы и заключение. В первой подглаве дано определение ГКМП, особенностях этиологии и клинических проявлений, дана историческая справка и приведены подходы к классификации заболевания. Во второй подглаве подробно изложены современные представления о структуре саркомера, охарактеризованы гены, кодирующие его основные структурные белки. В третьей подглаве описано современное состояние молекулярно-генетической диагностики заболевания.

В главе «**Материалы и методы исследования**» описан дизайн исследования и охарактеризованы группы пациентов, а также использованные в работе молекулярно-генетические и биоинформатические методы. Описание методов выполнено в полном объеме и является достаточным для понимания их релевантности с точки зрения обоснованности выбора в соответствии с выполняемыми задачами.

В главе «**Результаты и обсуждение**» представлены результаты и их последовательное обсуждение. Данная глава разделена на пять подглав в соответствии с дизайном исследования, а именно: проанализирована нуклеотидная изменчивость в экзонах генов саркомерных белков у пациентов из двух групп, оценена патогенность выявленных генетических вариантов. Далее проанализирована интронная изменчивость генов саркомерных белков у пациентов из двух групп. Идентифицированные варианты оценены в зависимости от их степени патогенности и регуляторного потенциала. Выявлены и описаны гаплотипы, формируемые потенциально значимыми генетическими вариантами. Проведено сравнение двух методов секвенирования ДНК: секвенирование нового поколения (NGS) и мономолекулярное секвенирование третьего поколения. С помощью мономолекулярного секвенирования определено цис-положение двух клинически значимых вариантов в гене *MYH7* у пациента с ГКМП. Проведен

анализ связи генотипа в генах саркомерных белков с фенотипическими проявлениями ГКМП, для чего были писаны отдельные случаи семей с редкими генетическими вариантами. Далее выполнен анализ ассоциаций генотипов и гаплотипов частых генетических вариантов с выраженностью гипертрофии миокарда по данным эхокардиографического обследования. Все полученные автором результаты диссертации представлены в таблицах и иллюстрациях, полноценно описаны и обсуждены в соответствии с уже имеющимися представлениями.

В **«Заключении»** подведены основные итоги исследования, анализируются точки соприкосновения с результатами других научных коллективов, подчеркиваются особенности и достоинства данной диссертационной работы.

«Выводы» отражают основные результаты диссертационного исследования и полностью соответствуют поставленным задачам.

Автореферат в целом соответствует диссертации и отражает основные этапы работы, выводы и результаты. Полученные результаты наглядно оформлены в виде графиков и таблиц.

Рекомендации по применению результатов диссертации

Полученные результаты могут быть использованы для выполнения и трактовке результатов молекулярно-генетической диагностики одного из наиболее частых наследственных заболеваний – ГКМП. Полученные данные о устойчивых гаплотипах могут быть использованы для понимания механизмов возникновения заболевания. В дополнение, в рамках формирования персонифицированного подхода могут быть практически использованы результаты определения цис-транс положений выявленных мутаций, что может иметь клиническое значение в определении прогноза в данной группе пациентов.

Замечания и вопросы по диссертационной работе

Принципиальных замечаний к работе нет. В формате дискуссии хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

С учетом влияния описанных гаплотипов на фенотипические проявления гипертрофии миокарда и упомянутых eQTL-эффектов в отношении генов воспалительного ответа, протеостаза и генов цитоскелета, считаете ли Вы перспективным оценить потенциальное влияние выявленных интронных вариантов и гаплотипов на наличие и течение нарушений ритма, а также степени фиброзных изменений и провоспалительного профиля тканей при ГКМП?

2. Чем в выполненной работе определялся при оценке патогенности мутаций и их функциональной значимости порог значения CADD Phred равный 10?

Заключение

Диссертационная работа Валиахметова Наиля Раушановича на тему: «Вариабельность генов саркомерных белков при гипертрофии миокарда различного генеза» является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная для генетики научно-практическая задача по анализу нуклеотидной изменчивости генов саркомерных белков при гипертрофии миокарда различного генеза и описанию вариантов, определяющих формирование данных патологических фенотипов, что обеспечит лучшее понимание молекулярно-генетических механизмов их развития и течения.

По своей актуальности, научной новизне, практической ценности полученных результатов, методическому уровню и объему проведенных исследований представленная диссертационная работа полностью соответствует критериям, установленным пунктом 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от

25.01.2024), предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор - Валиахметов Наиль Раушанович заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Отзыв на диссертационную работу Валиахметова Наиля Раушановича на тему «Вариабельность генов саркомерных белков при гипертрофии миокарда различного генеза» рассмотрен, обсужден и одобрен на Проблемной комиссии по клеточной и молекулярной биологии, генетике ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, №3», протокол от 24.04. 2024

Директор Института молекулярной биологии и генетики, профессор кафедры внутренних болезней Института медицинского образования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н.



Костарева Анна Александровна

24 апреля 2024 г.

Подпись доктора медицинских наук Костаревой Анны Александровны заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «Национальный медицинский, исследовательский центр имени В. А. Алмазова Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации



Недолов Александр Олегович

197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

тел: 8 (812) 702-37-77

e-mail: fmrc@almazovcentre.ru