

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Полоникова Алексея Валерьевича на диссертационную работу Шахтшнейдер Елены Владимировны «Молекулярно-генетические исследования гиперхолестеринемии в европеоидной популяции Сибири», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям

1.5.7 Генетика (медицинские науки), 3.1.20 Кардиология

Актуальность темы диссертационной работы

Необходимость исследования генетической природы мультифакториальных заболеваний в отдельно взятых популяциях мира связана с выраженной межпопуляционной генетической гетерогенностью, как в спектре и частотах минорных аллелей и мутаций, так и в неравновесии по сцеплению между локусами, которые могут существенно влиять на этническую специфичность молекулярных механизмов патогенеза болезней. Высокая медико-социальная значимость атеросклероза – одного из самых распространенных мультифакториальных заболеваний в мире, обосновывает необходимость поиска генетических маркеров для раннего выявления лиц, предрасположенных к данной патологии и разработки персонализированных подходов к их лечению. В этой связи диссертационная работа Шахтшнейдер Елены Владимировны, посвященная анализу вариабельности генов метаболизма липидов и их связи с нарушениями липидного обмена в популяционной группе пациентов с семейной гиперхолестеринемией и коронарным атеросклерозом в Западной Сибири, является актуальной как с научной, так и с практической точки зрения.

Новизна научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В рамках диссертационного исследования Шахтшнейдер Е.В. впервые исследованы частоты аллелей по широкому спектру полиморфных вариантов генов, вовлечённых в регуляцию липидного обмена, и оценены их ассоциации с липидным профилем и индексом атерогенности в популяционной выборке европеоидного населения Западной Сибири.

Диссертантом установлен ряд новых данных о спектре редких вариантов большого числа генов, ассоциированных с нарушениями липидного обмена. Впервые в России проведено полное секвенирование кодирующей части гена *LDLR* в популяционной выборке Западной Сибири. В результате был идентифицирован ряд редких «вероятно патогенных» вариантов в гене *LDLR*. На основе проведенного автором транскриптомного анализа атеросклеротических бляшек пациентов с коронарным атеросклерозом установлен спектр дифференциально экспрессирующихся генов - повышение экспрессии генов *ABCA1*, *APOE*, *LIPA*, *LPL*, *SCARB1* и *STAP1* в нестабильной атеросклеротической бляшке дистрофически-некротического типа и повышение экспрессии генов *APOB*, *LDLR*, *LDLRAP1* и *SREBF2* в стабильной атеросклеротической бляшке фиброзного типа.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность и обоснованность результатов диссертационной работы научных положений, выводов и рекомендаций определяется высоким научно-методическим уровнем выполненных исследований, достаточным объемом материалов (для проведения молекулярно-генетического исследования использовалась выборка численностью 909 человек), использованием современных молекулярно-генетических методов, включая полноэкзомное и таргетное секвенирование, ПЦР в режиме реального времени и ПЦР-ПДРФ анализ, а также статистических методов, в том числе примененных на этапе планирования исследования для расчётов эффективного объёма выборки и статистической мощности исследования.

Полнота изложения основных результатов исследования в диссертации и научной печати

По теме диссертационной работы опубликовано 20 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных Перечнем ВАК Российской Федерации. Кроме этого, 6 статей опубликованы в зарубежных рецензируемых журналах, в том числе 4 статьи в журналах, входящих в первый квартиль Journal Citation Reports международной реферативной базы данных Web of Science. Статьи опубликованы в журналах, соответствующих

заявленным специальностям и отражают основные результаты диссертации. Основные результаты исследования по теме работы также широко обсуждены на конференциях российского и международного уровней.

Личный вклад автора

В диссертационной работе представлены результаты, полученные автором лично или при его непосредственном участии. Автором проведен анализ литературы по теме диссертации и подготовлен литературный обзор. Автором лично проведено клиническое обследование большей части пациентов. Диссертантом выполнена пробоподготовка образцов ДНК для молекулярно-генетического анализа с помощью полноэкзомного и таргетного секвенирования, а также генотипирование с помощью ПЦР в режиме реального времени и ПЦР-ПДРФ всех анализируемых в работе полиморфных вариантов, проведена статистическая обработка, анализ данных и интерпретация полученных результатов. Автором лично разработана таргетная панель генов для изучения нарушений липидного обмена. В соавторстве были написаны и опубликованы печатные работы, в которых отражены основные результаты диссертационной работы.

Оценка содержания диссертации

Диссертация изложена на 232 страницах машинописного текста и включает в себя введение, литературный обзор, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение, практические рекомендации, выводы и приложение. Список литературы включает 381 источник (340 зарубежных и 41 отечественных авторов). Диссертация наглядно иллюстрирована 24 таблицами и 11 рисунками.

Во введении автор обосновывает выбор темы исследования, формулирует цель и задачи исследования. Положения, выносимые на защиту, резюмируют и отражают наиболее значимые результаты исследования.

Обзор литературы посвящен анализу современных научных данных о генетических факторах, связанных с нарушениями липидного обмена при атеросклерозе. Автором дается детальная характеристика роли генов *ABCA1*, *APOA1*, *APOB*, *APOC3*, *APOE*, *CETP*, *CLPS*, *LDLR*, *LPL*, *SCARB1* и *SREBF2* в

детерминации липидного обмена. Следует отметить, что литературный обзор подготовлен на основании анализа большего числа отечественных и зарубежных источников, тем самым, давая целостное и детальное представление о современном состоянии изучаемой проблемы.

Вторая глава диссертационной работы посвящена характеристике материалов и методов и включает описание групп пациентов, включенных в исследование, описание методов, использованных для клинических, биохимических, генетических исследований и статистического анализа данных. Материалы и методы, используемые диссертантом, современны и соответствуют целям и задачам исследования.

Третья глава включает основные результаты исследования и их обсуждение. В данном разделе автором приводится детальное описание полученных в ходе выполнения исследования результатов. Особого внимания заслуживают результаты, полученные при анализе ассоциаций полиморфных вариантов генов с липидным профилем и индексом атерогенности. В частности, автором установлено, что у европеоидного населения Западной Сибири полиморфные варианты rs429358 и rs74123 гена *APOE* ассоциированы с уровнем ОХС, ХС-ЛНП, ТГ в крови и индексом атерогенности, тогда как вариант rs708272 гена *CETP* - с уровнем ХС-ЛВП в крови. Также показано, что частоты аллелей и генотипов *ABCA1*, *APOA1*, *APOB*, *APOC3*, *APOE*, *CETP*, *CLPS*, *LPL*, *SCARB1* и *SREBF21* у европеоидного населения Западной Сибири значимо не отличается от таковых в популяциях Центральной и Восточной Европы. Автором показано, что у пациентов с СГХС гетерозиготная форма заболевания в 73,1% случаев обусловлена редкими вариантами в гене *LDLR*, в 11,5% – в гене *APOB* и в 15,4% – редкими вариантами в других генах, ассоциированных с нарушениями липидного обмена, такими как *LPL*, *SREBF2*, *APOC3* и *ABCG5*. Выявлены два новых вероятно патогенных варианта в гене *LDLR*, а также другие редкие патогенные и вероятно патогенные варианты в данном гене. Транскриптомный анализ позволил диссертанту установить, что у пациентов с коронарным атеросклерозом имеют место изменения в профиле экспрессии отдельных генов липидного обмена в нестабильной атеросклеротической

бляшке дистрофически-некротического типа (*ABCA1*, *APOE*, *LIPA*, *LPL*, *SCARB1* и *STAP1*) и стабильной атеросклеротической бляшке фиброзного типа (*APOB*, *LDLR*, *LDLRAP1* и *SREBF2*). В обсуждении представлен анализ итогов научной работы и сопоставление полученных результатов с данными других исследований.

В разделе «Заключение» автор кратко подводит итоги всех выполненных исследований, резюмируя и интерпретируя полученные результаты. Выводы соответствуют цели и задачам исследования, информативны и лаконично вытекают из полученных результатов, обоснованность и достоверность которых в полной мере убедительны. Автореферат отражает основные результаты выполненной диссертационной работы.

Практическая значимость научных результатов исследования

Диссертантом показано, что использование клинических критериев, таргетного секвенирования и MLPA позволяет эффективно выявлять лиц – носителей редких патогенных вариантов генов липидного обмена и на их основе характеризовать фенотипические особенности СГХС. С практической точки зрения представляет интерес генетическое тестирование полиморфизма генов *APOE*, *CETP*, *LPL*, и *SCARB1* совместно с липидными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний и метаболического синдрома для оценки индивидуального риска развития дислипидемии. На основе полученных результатов для ранней диагностики семейной и комбинированной гиперхолестеринемии автором обоснована целесообразность проведения таргетного секвенирования у пациентов с 3 и более баллами по критериям Dutch Lipid Clinic Network. Для ранней диагностики и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с диагнозом семейная гиперхолестеринемия автором рекомендовано применение расширенных таргетных панелей генов, включающих *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *ABCG5*, *APOA5*, *APOC3*, *APOE*, *LPL* и *SREBF1*.

Общие вопросы и замечания по работе

В целом по структуре и содержанию диссертационной работы принципиальных замечаний нет. Вместе с тем к диссертации имеются некоторые замечания и вопросы.

Замечания:

1. Мультифакториальная природа нарушений липидного обмена и атеросклероза подразумевает совместное участие генетических и средовых факторов, причем в большинстве случаев именно средовые факторы играют ведущую роль в развитии патологии. При эпидемиологическом обследовании пациентов Вашей популяционной выборки оценивались и были доступны у пациентов данные по таким факторам как курение, употребление алкоголя, особенности питания и др. Однако Вами не был проведен анализ генно-средовых взаимодействий в детерминации нарушений липидного обмена и коронарного атеросклероза, который мог бы более обстоятельно объяснить природу и механизмы, лежащие в основе атерогенных изменений липидного метаболизма у пациентов с коронарным атеросклерозом.

2. Хорошо известно, что репликация / валидация гено-фенотипических ассоциаций в независимых популяциях мира необходима, с одной стороны, для подтверждения причастности ассоциированных локусов к патогенезу заболеваний, с другой стороны – для выявления или исключения факта популяционной специфичности во взаимосвязях полиморфных вариантов генов с формированием предрасположенности к болезням. Во 2-м выводе Вы указываете, что в подвыборке лиц с максимально высокими значениями общего холестерина крови из популяционной группы европеоидного населения Западной Сибири выявлены редкие «вероятно патогенные» варианты в гене *LDLR*: rs2077408020, rs768563000, rs121908040, rs137929307 и rs1225797407. Чтобы ответить на вопрос, насколько специфичны данные ассоциации для жителей Западной Сибири Вам необходимо было провести репликационный анализ ассоциаций данных локусов в других европеоидных популяциях, в частности с использованием доступных в интернете данных суммарных статистик полногеномных ассоциативных исследований.

Вопросы:

1. Вами были рассчитаны значения статистической мощности и необходимого объема выборок для исследования с помощью программы «Genetic Power Calculator». Однако ни в диссертации, ни в автореферате не было указано, каковы были значения статистической мощности при анализе ассоциаций, как в общих, так и стратифицированных группах?

2. Вопросы по практической рекомендации 2 (“Рекомендовано включение в таргетную панель не только генов *LDLR*, *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, но и генов *ABCG5*, *APOA5*, *APOC3*, *APOE*, *LPL*, *SREBF1*”). Каков суммарный вклад (в %) мутаций данных генов в детерминацию риска развития СГХ согласно Вашим результатам и/или данным литературы? Насколько экономически целесообразно проведение такого анализа для ранней диагностики и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с диагнозом семейная гиперхолестеринемия?

Высказанные замечания не носят принципиального характера и никоим образом не снижают ценности, новизны результатов и практической значимости выполненной диссертационной работы.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Шахтшнейдер Елены Владимировны «Молекулярно-генетические исследования гиперхолестеринемии в европеоидной популяции Сибири», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.7 Генетика (медицинские науки), 3.1.20 Кардиология, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой на основании полученных результатов, сформулированы теоретические положения и практические разработки, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в понимании молекулярно-генетических основ и этноспецифических особенностей развития гиперхолестеринемии и атеросклероза, что имеет большое значение для медицинской генетики и кардиологии. Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской

Федерации от 24.09.2013 г. №842 (в редакции от 25.01.2024 г.), предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор, Шахтшнейдер Елена Владимировна, заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальностям 1.5.7 Генетика (медицинские науки), 3.1.20 Кардиология.

Официальный оппонент:

директор научно-исследовательского института генетической и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России), доктор медицинских наук (специальность 03.02.07 «Генетика»), профессор

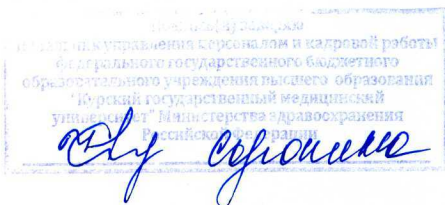


Полоников Алексей Валерьевич

04.12.2024 дата

305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д.3
тел.: +7-4712-588147, E-mail: polonikovav@kursksmu.net
Сайт университета: <https://kurskmed.com/>

Подпись Полоникова А.В. заверяю:



Федеральное государственное бюджетное образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 305041 г. Курск, ул. Карла Маркса, 3, Телефон: (4712) 58-81-32, E-mail: kurskmed@mail.ru.