

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Валиахметова Наиля Раушановича на тему «Вариабельность генов саркомерных белков при гипертрофии миокарда различного генеза», представленную к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7 - Генетика

Актуальность темы исследования

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) является одним из наиболее частых наследственных заболеваний, которое обусловлено патогенными вариантами в генах, кодирующих белки саркомера сердечной мышцы – *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3* и *TPM1*. Осложненное течение данной патологии характеризуется внезапной смертью и развитием сердечной недостаточности. Однако примерно у половины пациентов (40-70%) не удается выявить молекулярную причину заболевания.

С другой стороны, гипертрофия миокарда может формироваться компенсаторно при артериальной гипертензии, что является неблагоприятным прогностическим фактором развития сердечной недостаточности и аритмии. Как было установлено в результате полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), вторичная гипертрофия левого желудочка имеет общую генетическую основу с ГКМП, причем функциональная аннотация белковых продуктов генов показала их вовлеченность в организацию саркомера и развитие мышц.

В связи с этим, в диссертационной работе Валиахметова Н.Р. проверена гипотеза, что вариабельность в генах белков саркомера может вносить вклад в формирование фенотипа при гипертрофии миокарда различного генеза – ГКМП и в результате артериальной гипертензии. Особенностью работы является анализ полной нуклеотидной последовательности генов *MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3* и *TPM1*, выполненный с помощью массового параллельного и нанопорового секвенирования длинных фрагментов ДНК.

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

Диссертационная работа Валиахметова Н.Р. проведена на достаточно высоком методическом уровне. В ходе работы были сформулированы научные положения и выводы с применением современных методов молекулярно-генетического исследования (ПЦР длинных фрагментов, секвенирование ДНК по технологии Illumina и Oxford Nanopore Technologies), а также с привлечением большого количества данных из открытых источников и баз, использования широкого спектра методов биоинформационного и статистического анализа данных, в том числе GATK, Annovar, CADD, Guppy, Nanopolish, Clair3, Medaka, HGMD, Varsome, VannoPortal, RUSeq, GnomAD, Genotype-Tissue Expression (GTEx) project, GWAS catalog, RegulomeDB, AlphaFold Protein Structure Database, ADAstra, TargetScan, RBPmap, RNAfold, Harpview. Достоверность результатов работы сомнений не вызывает.

Научная новизна исследования

В результате выполнения диссертационной работы впервые проведено успешное прямое определение гаплотипов исследуемых генов саркомерных белков при ГКМП и гипертрофии миокарда левого желудочка при артериальной гипертензии. Проверена гипотеза о вкладе вариантов генов менделевских заболеваний в развитие многофакторной патологии на примере группы пациентов с компенсаторной гипертрофией миокарда в результате артериальной гипертензии. Обнаружены ассоциации частых вариантов генов саркомерных белков с изменчивостью количественных характеристик миокарда у пациентов с ГКМП.

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

В ходе выполнения настоящего диссертационного исследования получен опыт применения нового подхода создания молекулярно-генетической диагностической панели «частых» генов ГКМП с помощью ПЦР длинных фрагментов с амплификацией полной последовательности генов. По результатам секвенирования молекулярно-генетическая причина заболевания была установлена у 26% обследованных пациентов с ГКМП. Были выявлены генотипы и протяженные гаплотипы, ассоциированные с эхокардиографическими параметрами миокарда и имеющие рисковый или протективный эффект в отношении развития гипертрофии миокарда различной этиологии. Результаты могут быть использованы для формирования персонализированного подхода к оценке риска и прогноза данной патологии миокарда.

Материалы данного исследования могут быть использованы в учебном процессе студентов медико-биологических направлений подготовки.

Структура и содержание диссертационной работы

Полный объём диссертационной работы Валиахметова Н.Р. составляет 201 страницу, включая 35 рисунков и 13 таблиц. Работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и 5 приложений. Библиографический указатель включает 315 источников.

В разделе «Введение» описаны степень научной разработанности, новизна, теоретическая и практическая значимость, а также актуальность исследования, представлены цель и задачи работы. Изложена методология исследования и положения, выносимые на защиту, и отображено личное участие автора, приведена информация о публикациях.

В главе «Обзор литературы» описана история изучения ГКМП, представлены различные подходы к классификации данного заболевания и приведена характеристика генов саркомерных белков (*MYBPC3*, *MYH7*, *TNNT2*, *TNNI3* и *TPM1*). Кроме того, выделены современные молекулярно-генетические подходы к изучению генетической основы гипертрофической кардиомиопатии.

В главе «Материалы и методы исследования» приведен дизайн исследования и дана подробная клиническая характеристика двух сформированных выборок – ГКМП и гипертрофия миокарда при артериальной гипертензии. В данной главе также описаны использованные в работе молекулярно-генетические и биоинформатические методы.

Глава «Результаты и обсуждение» включает пять подглав. В первой подглаве охарактеризована нуклеотидная изменчивость в экзонах генов саркомерных белков у пациентов из двух исследованных групп, а также дано подробное описание клинически значимых генетических вариантов, выявленных у пациентов.

Во второй подглаве охарактеризована интронная изменчивость генов саркомерных белков и проведено приоритизирование вариантов в отношении их потенциальной значимости, а также описана структура гаплотипов.

В третьей подглаве проведено сравнение двух использованных методов секвенирования: прямого мономолекулярного секвенирования (Oxford Nanopore Technologies) и массового параллельного секвенирования (Illumina) генов саркомерных белков.

В четвёртой подглаве описано определение протяженного гаплотипа в гене *MYH7*, который состоит из двух клинически значимых генетических вариантов (p.Arg1420Gln и p.Glu1205Lys), у пациента с семейной формой ГКМП с помощью мономолекулярного секвенирования.

В последней части данной главы проанализирована связь генетических вариантов и выявленных гаплотипов в генах саркомерных белков с изменчивостью клинических проявлений и эхокардиографических параметров ГКМП.

Существенный интерес в работе представляют полученные данные о связи гаплотипов, сформированных вариантами в интронной части генов саркомерных белков, с разными фенотипами – ГКМП и гипертрофии миокарда, сформировавшейся при артериальной гипертензии. Описанный опыт применения мономолекулярного секвенирования в целях молекулярной диагностики ГКМП в сравнении с общепринятым методом массового параллельного секвенирования подчеркивает практическую ценность диссертации.

В «Заключении» автор в краткой форме подводит итог всех исследований и резюмирует ключевые положения диссертационной работы. Выводы диссертационного исследования четко сформулированы и соответствуют поставленным целям и задачам.

Сведения о полноте опубликованных научных работ

По теме исследования опубликовано в соавторстве 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 Web of Science или Scopus (одна статья в журнале уровня Q1).

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Валиахметова Н.Р. полностью соответствует основным положениям диссертации. В автореферате отражены актуальность исследования, степень разработанности темы, цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, основные положения, выносимые на защиту, полученные результаты; приведены обобщающее заключение и выводы.

Общие вопросы и замечания по работе

1. Проводился ли анализ пол-специфических особенностей связей изучаемых генов с ГКМП и гипертрофией миокарда, сформировавшейся при артериальной гипертензии, и есть ли какие-либо биологические предпосылки для наличия таких особенностей?

2. В какой программе оценивались гаплотипы с помощью алгоритма «Clair3» (v0.1-r11) и с помощью какого алгоритма проведена визуализация гапблоков в программе «Haploview»?

3. Использовались ли в работе какие-либо поправки на множественные сравнения?

4. Могут ли по мнению автора полученные им данные для ГКМП быть применимы (может быть в ориентировочном плане) для дилатационной кардиомиопатии?

Приведенные вопросы не влияют на общее благоприятное впечатление от диссертационной работы Валиахметова Н.Р.

Заключение

Диссертационная работа Валиахметова Наиля Раушановича на тему «Вариабельность генов саркомерных белков при гипертрофии миокарда различного генеза» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научно-практическая задача по идентификации вариантов в генах саркомерных белков, определяющих формирование фенотипа гипертрофии миокарда различного генеза, что имеет существенное значение для формирования фундаментальных знаний о генетической структуре данной патологии и персонализированного подхода к оценке риска и прогноза ремоделирования миокарда.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ №842

от 24.09.2013г. (в ред. от 25.01.2024г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор – Валиахметов Наиль Раушанович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7 - Генетика.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин медицинского института ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

Министерства науки и высшего образования РФ

Заслуженный работник высшей школы РФ

Доктор медицинских наук

(шифр специальности 1.5.7. - Генетика)

Профессор



Чурносов Михаил Иванович

18.04.24

Контактные данные:

Адрес: 308015 г.Белгород ул.Победы д.85

Телефон: 4722 301383

E-mail: churnosov@bsu.edu.ru

Личную подпись удостоверяю Ведущий специалист по кадрам департамента управления персоналом	
	 «18» апреля 2024 г.

