

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, заведующей лабораторией медицинской генетики ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского» Захлязьминской Елены Валерьевны, на диссертационную работу: «Мультисистемная атрофия: фенотипический спектр и молекулярные биомаркеры» Андреева Максима Николаевича, представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 3.1.24. – Неврология, 1.5.7. – Генетика

### Актуальность темы диссертации

Мультисистемная атрофия (МСА) представляет собой тяжелое быстро прогрессирующее нейродегенеративное заболевание с сочетанием вегетативной недостаточности с синдромом паркинсонизма либо мозжечковым синдромом.

В настоящее время установление диагноза является сложной задачей, несмотря на наличие четких диагностических критериев. Также не существует достоверного лабораторного или инструментального метода выявления МСА.

Нейрофизиологические маркеры и критерии вовлечения в процесс вегетативной нервной системы у пациентов с МСА нуждаются в дальнейшем уточнении.

Существует несколько генов, которые, предположительно, играют роль в развитии МСА. Был описан ряд случаев, связанных с мутациями в гене  $\alpha$ -синуклеина (*SNCA*) и гене *COQ2* (преимущественно в восточноазиатской популяции). На сегодняшний день причины патологической агрегации  $\alpha$ -синуклеина в нейронах и/или глиальных клетках при различных нейродегенеративных заболеваниях окончательно не определены. Одной из наиболее вероятных причин является изменение экспрессии белка альфа-синуклеина, а также дисбаланс сего различных сплайсинг-форм *SNCA*.

Для МСА выделены кандидаты на роль биомаркеров в крови и ликворе, такие как общий и фосфорилированный  $\alpha$ -синуклеин, олигомеры  $\alpha$ -синуклеина, общий и фосфорилированный  $\tau$ -белок, легкие цепи нейрофиламентов – NFL. Коэнзим Q10 также является перспективным кандидатом на роль биомаркера МСА, так как его уровень снижен у пациентов с МСА. Все перечисленные биомаркеры являются относительно новыми и требуют дальнейшего изучения и возможно внедрения в клиническую практику.

Данная работа посвящена изучению вышеуказанных маркеров в клинической практике для повышения точности диагностики МСА. Ввиду наличия ограниченных данных по экспрессии альфа-синуклеина актуальность результатов данной работы обусловлена не только медицинской значимостью, но и будет полезна в изучении патогенеза данного заболевания.

### **Достоверность и новизна результатов и выводов диссертационной работы**

Достоверность результатов и выводов диссертационной работы подтверждается четко сформулированными целью и задачами, использованием современных клинических, инструментальных и лабораторных методов исследования, большим количеством наблюдений, использованием адекватных методов статистического анализа, которые отвечают задачам исследования. Выводы, практические рекомендации и основные положения, выносимые на защиту, основаны на представленных результатах анализа данных, логически следуют из них и полностью соответствуют цели и задачам работы. По теме диссертации опубликовано достаточное количество печатных работ.

В работе уточнен фенотипический спектр МСА и двух его типов (мозжечкового и паркинсонического) у российских пациентов.

Впервые на одной когорте пациентов с МСА исследованы однонуклеотидные полиморфизмы гена *SNCA* с целью поиска генетических ассоциаций, показана дифференциальная экспрессия *SNCA* и его отдельных транскриптов, определен повышенный уровень белка  $\alpha$ -синуклеина в крови в качестве потенциального нового биомаркера МСА.

Впервые в России и в одном из первых исследований в европейских популяциях у пациентов с МСА изучена взаимосвязь развития заболевания с уровнем коэнзима Q10: проведено секвенирование гена *COQ2*, продукт которого (ко-Q2) участвует в биосинтезе вышеуказанного коэнзима, а также оценен его уровень в периферической крови пациентов по сравнению с контролем.

### **Теоретическое и практическое значение работы**

Теоретическое значение работы заключается в сопоставлении молекулярных механизмов двух основных форм синуклеинопатий – МСА и БП – на трех уровнях: генетическом (нуклеотидные варианты *SNCA*), посттранскрипционном (альтернативные транскрипты *SNCA*) и



посттрансляционном (общий уровень белка альфа-синуклеина). В работе проведено исследование возможной роли коэнзима Q10 в развитии митохондриальной дисфункции при синуклеинопатиях: изучены нуклеотидные варианты гена *COQ2* и уровень скорректированного коэнзима Q10 в крови.

Практическое значение работы заключается в детальной оценке клинической гетерогенности МСА с описанием клинических и нейрофизиологических характеристик двух фенотипов заболевания (паркинсонического и мозжечкового). Показана диагностическая значимость батареи тестов Юинга и кожных симпатических вызванных потенциалов для дифференциальной диагностики МСА с клинически близким заболеванием — БП.

### **Оценка содержания диссертации и ее завершенности**

Диссертация изложена на 127 листах машинописного текста, содержит 38 таблиц, 4 приложения и иллюстрирована 22 рисунками. Диссертация построена из следующих разделов: введение; обзор литературы; материалы, дизайн и методы исследования; результаты исследования; обсуждение полученных результатов; выводы и практические рекомендации, а также списка литературы и приложений.

Библиографический указатель содержит 191 отечественных и зарубежных источника литературы, а также 6 собственных публикаций автора, подготовленных по теме диссертационной работы.

Во введении автором отражена актуальность проблемы, определена цель и задачи научной работы, личный вклад автора.

Первая глава содержит обзор литературы, который отражает современные представления об изучаемой проблеме. Представленный обзор литературы имеет достаточный объем и подчеркивает осведомленность автора по различным направлениям темы исследования.

Во второй главе описаны материалы и методы исследования, структура исследуемых групп, используемые методы статистического анализа данных.

В третьей главе с использованием иллюстративного материала представлены результаты исследования: анализ спектра фенотипических проявлений, оценка выраженности симптомов, а также краткий анализ нейровизуализационных данных. Проанализированы предварительные диагнозы у пациентов с МСА. Отдельно представлен анализ нейрофизиологических исследований, включая количественные связи между различными показателями, а также результаты молекулярно-генетических анализов и оценка экспрессии сплайсинг-форм гена *SNCA*. Также



рассмотрены уровни коэнзима Q10 и альфа-синуклеина в крови, проанализированы вероятные факторы, которые могут влиять на их концентрацию.

Четвертая глава посвящена обсуждению и обобщению полученных результатов, проведению сравнений с данными, описанными в литературе.

Выводы логичны и вытекают из содержания диссертации, основаны на научных данных и адекватном статистическом анализе, соответствуют цели и поставленным задачам научной работы.

Практические рекомендации сформулированы четко и понятно, что позволяет применять их в практической деятельности.

### **Степень обоснованности выводов и практических рекомендаций**

Диссертационная работа Андреева М.Н. представляет самостоятельное научное исследование, выполненное в соответствии с современными требованиями. В процессе выполнения работы автором были обследованы 75 пациентов с синуклеинопатиями и 20 здоровых добровольцев с применением нейровизуализационных, нейрофизиологических, лабораторных и молекулярно-генетических методов исследования. Научные положения и выводы, сформулированные в диссертации, основаны на фактических данных и наглядно продемонстрированы в таблицах и рисунках. Полученные в работе данные соответствуют исходной цели и задачам исследования, что позволяет говорить о высокой степени обоснованности полученных результатов.

### **Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы**

Результаты диссертационной работы Андреева Максима Николаевича могут быть использованы в клинической практике, при проведении дальнейших научных исследований, а также в образовательном процессе студентов, ординаторов и аспирантов по специальностям «Нервные болезни» и «Генетика».

### **Замечания по диссертационной работе**

Выборки пациентов, использованный для оценки представленности генетических вариантов в генах *SNCA* и *COQ2* составили: МСА – 45 пациентов, БП - 30 человек, что определяется доступным клиническим материалом. Но размер контрольной группы составил всего 20 человек (40 аллелей), что явно недостаточно для достоверной оценки представленности аллелей в популяции. Вероятность того, что нормальные популяционные аллели будут недопредставлены по случайным причинам, весьма высока. В этих условиях в качестве частот сравнения (MAF) гораздо уместнее было бы



пользоваться MAF аллелей, представленных в популяционных базах данных (оптимально – gnomAD v4.1.0, в которой представлены данные 807 162 условно-здоровых лиц разных этнических групп). По этой причине частота редкого аллеля в гене *SNCA* rs10005233, при расчетах была принята за 0, хотя в gnomAD v4.1.0 его MAF составляет 0,000001829. Это же касается всех других псевдо-нулевых частот аллелей, приведенных в главе «Результаты». Справедливости ради надо уточнить, что использование истинных частот аллелей, полученных на больших выборках, вместо эмпирического «0» не изменило бы достоверности наличия/отсутствия различий, но такой вид представления научных данных был бы более академичным.

В настоящее время любой генетический вариант, который обсуждается в клиническом контексте, принято оценивать по стандартным критериям патогенности РОМГ(2018) или ACMG/AMP(2015). Указание класса патогенности для каждого из обсуждаемых вариантов было бы полезно для обсуждения их значимости, но может быть сделано в перспективе развития настоящего исследования.

#### **Сведения о полноте опубликованности основных результатов диссертации**

По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат диссертации Андреева М.Н. содержит обоснование актуальности темы, научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, описание методологии и методов исследования, основных результатов исследования, выводы и практические рекомендации и полностью соответствует основным положениям диссертации.

#### **Заключение**

Таким образом, диссертация Андреева Максима Николаевича «Мультисистемная атрофия: фенотипический спектр и молекулярные биомаркеры» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится крупный фрагмент актуальной научной задачи по изучению фенотипического спектра мультисистемной атрофии, а также возможностей нейрофизиологических и молекулярно-генетических методов исследования при диагностике данного заболевания, в т.ч. от фенотипически

близкой формы – болезни Паркинсона, имеющей важное научное и практическое значение.

Диссертация Андреева Максима Николаевича полностью соответствует требованиям согласно п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления от 25.01.2024), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 3.1.24. Неврология.

Отзыв направляется в Диссертационный совет 24.1.186.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр неврологии».

Официальный оппонент:

Заведующая лабораторией  
медицинской генетики ФГБНУ  
«Российский научный центр  
хирургии имени академика Б. В.  
Петровского»,  
доктор медицинских наук

\_\_\_\_\_  
Заклязьминская Е.В.

Даю согласие на сбор, обработку и  
хранение персональных данных

\_\_\_\_\_  
Заклязьминская Е.В.

Подпись д.м.н., Е.В. Заклязьминской  
ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь ФГБНУ  
«Российский научный центр  
хирургии имени академика  
Б. В. Петровского», доктор  
медицинских наук



\_\_\_\_\_  
Михайлова А.А.

«20» сентября 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского», 119991, Москва, ГСП-1, Абрикосовский пер., д.2; тел. +7 499 248 54 9;  
E-mail: info@med.ru