

Отзыв **официального оппонента**  
на диссертационную работу  
Федотовой Екатерины Юрьевны  
«Первичный паркинсонизм: молекулярно-генетический анализ,  
биомаркеры, продромальная стадия»,  
представленную на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук  
по специальности 14.01.11 – Нервные болезни

**Актуальность темы выполненной работы:** Первичный паркинсонизм представлен болезнью Паркинсона и ювенильным паркинсонизмом. Патогенетически и фенотипически к первичному паркинсонизму близки синдромы атипичного паркинсонизма. Генетическая структура первичного паркинсонизма с использованием последних, современных методов ДНК-диагностики не исследовалась, в то время как генетическая структура синдромов атипичного паркинсонизма в российской популяции до настоящего времени вовсе не исследовалась. В последние годы появились новые возможности выявления редких молекулярно-генетических форм с помощью NGS-анализа, что также требует отдельного изучения в свете нейродегенеративного паркинсонизма. Еще одним аспектом, который был рассмотрен в диссертационном исследовании Е.Ю.Федотовой, значится выявление биомаркеров болезни Паркинсона. Биомаркеры исследовались с помощью доступных методов объективизации зрительной дисфункции – зрительных вызванных потенциалов и оптическая когерентная томография. Биомаркеры дают важную информацию о патогенезе заболевания и могут использоваться в диагностических целях. Остается до конца не определена диагностическая значимость гиперэхогенности черной субстанции, ее динамика в процессе развития заболевания.

Известно, что болезнь Паркинсона имеет длительную продромальную стадию, на которой, вероятно, наиболее эффективны методы нейропротекции, предотвращающие развитие заболевания. По этой причине наиболее актуальная тема на настоящий момент – разработка алгоритма выявления продромальной стадии у условно клинически здоровых людей в общей популяции. Известны неоторные маркеры болезни Паркинсона, однако их значимость для диагностики продромальной стадии до сих пор не определена. В связи с этим выбранная тема диссертационного исследования Е.Ю.Федотовой и ее изученные аспекты являются крайне значимыми и актуальными.

**Достоверность и новизна результатов работы:** Достоверность результатов работы обеспечивается большой выборкой больных и контрольных групп по всем исследованиям, составляющим диссертационную работу. Цель и задачи исследования поставлены четко и продумано. В работе используются как наиболее современные, так и традиционные методы лабораторной и инструментальной диагностики. Методика их выполнения полно представлена в соответствующем разделе. Выводы и практические

рекомендации диссертационной работы основываются на фактическом материале, корректной статической обработке. Все перечисленное свидетельствует в пользу достоверности представленных результатов и выводов диссертации.

Новизна исследования состоит в определении впервые в российской популяции генетической структуры первичного паркинсонизма, атипичного паркинсонизма. Впервые показана значимость для диагностики болезни Паркинсона нарушение цветовосприятия на зелено-черный паттерн, выявляемое с помощью зрительных вызванных потенциалов. Показаны корреляции данной нейрофизиологической характеристики с клиническими особенностями заболевания и влияние на нее лекарственной противопаркинсонической терапии. Изучена достаточно большая группа риска болезни Паркинсона в сравнении с контрольной группой на предмет продромальных немоторных и моторных проявлений заболевания по оригинальному протоколу. Кроме того, данная группа риска и контрольная группа прослежены в динамике.

**Ценность для науки и практики диссертационной работы:** Полученные результаты исследования имеют важное научное и практическое значение, которые в дальнейшем могут быть использованы как для дальнейших научно-исследовательских работ, так и в практической неврологии.

**Оценка содержания диссертации, ее завершенность:** Диссертационная работа Е.Ю.Федотовой состоит из нескольких подисследований: молекулярно-генетического анализа, исследований цветовых зрительных потенциалов, оптической когерентной томографии, транскраниальной сонографии, изучение продромальной стадии болезни Паркинсона.

**Молекулярно-генетический анализ.** Суммарно в исследование по генетике паркинсонизма вошли 539 пациентов, страдающих болезни Паркинсона. В группу атипичного паркинсонизма вошли суммарно 76 пациентов. В качестве групп сравнения обследованы 460 клинически здоровых лиц без неврологических заболеваний.

В работе использовались следующие молекулярно-генетические методы: ДНК-экстракция, прямое секвенирование ДНК по Сэнгеру, мультиплексная пробо-зависимая лигазная реакция с амплификацией (MLPA), фрагментный анализ, полимеразная цепная реакция с праймерами, специфичными к повторам, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени, стандартный анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов и секвенирование нового поколения – NGS.

В работе проводился мутационный скрининг генов следующих генов БП: *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*, *GBA*. В российской популяции на сплошной невыборочной серии пациентов с первичным паркинсонизмом оценен спектр мутаций в большом числе генов моногенных форм БП, при этом установлено, что общая частота генетических случаев заболевания составляет до 19,4%. Установлены наиболее часто

встречающиеся мутации при БП в российской популяции - *GBA* (11,6% всех изученных случаев), *LRRK2* (4,6%), *PARK2* (2,6%), первоочередное исследование которых должно служить основой для проведения ДНК-диагностики. Определены фенотипические особенности, характерные для носительства исследованных мутаций/полиморфизмов, что также помогает в выборе последовательности процедур ДНК-анализа.

Анализ ассоциаций у пациентов с БП включал гены *SNCA*, *ATXN2*, *C9orf72*, *FMR1*, *LINGO1*, *LINGO2*. Из перечисленных установлены ассоциативные связи БП с микросателлитными повторами в генах *SNCA*, *ATXN2*, *FMR1*, для некоторых из ассоциированных полиморфизмов выделены характерные клинические паттерны. Проведено репликативное исследование генетических связей БП с эссенциальным тремором (патогенетически и фенотипически близким с БП заболеванием), которое не подтвердило ассоциации с полиморфизмами генов *LINGO1* и *LINGO2*. В отличие от ряда других исследованных популяций, для российских пациентов с болезнью Паркинсона не выявлена ассоциация с промежуточной экспансией гексануклеотидных повторов гена *C9orf72*.

Группа атипичного паркинсонизма была обследована на носительство мутаций/полиморфизмов в генах *SNCA*, *PARK2*, *PINK1*, *DJ1*, *LRRK2*, *ATP13A2*, *GBA*, *MAPT*, *GRN*, *C9orf72*, *NPC1*. Подтверждена высокая частота встречаемости гаплотипа H1 гена *MAPT* в случаях прогрессирующего надъядерного паралича и кортико-базального синдрома. Приведено первое в российской популяции описание носительства мутаций *SNCA* при фенотипе МСА и случай носительства мутации *MAPT* с клиническими проявлениями в виде первичной прогрессирующей апраксии речи.

С помощью панели секвенирования нового поколения (разработана в ФГБНУ ИЦН) на выборке больных с паркинсонизмом (n=26) оценена встречаемость мутаций в 300 генах нейродегенеративной патологии: Найденные варианты нуклеотидной последовательности подробно рассматривались и интерпретировались согласно «Руководству по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS)» от 2017 года. Показано, что для первичного паркинсонизма важно рассмотрение не только патогенных вариантов, но и вариантов с неопределенной значимостью при поиске каузальных мутаций. NGS-формат секвенирования наиболее оправдан для определения молекулярного диагноза наиболее сложных случаев паркинсонизма, особенно ранних и семейных форм, а также при комплексных и «смежных» фенотипах заболевания..

*Цветовые зрительные вызванные потенциалы (ЦЗВП)*. В группу БП вошли 46 пациентов. Группу сравнения составили сопоставимые по возрасту и полу 58 обследованных. Методика ЦЗВП проводилась на приборе НейроМВП («Нейрософт», Иваново). Исследовались реверсивные паттерны: 1) контраст черных и белых клеток; 2) контраст черных и красных клеток; 3) контраст черных и зеленых клеток; 4) контраст черных и синих клеток; 5) контраст зеленых и красных клеток; 6) контраст синих и желтых клеток. Для

каждого контрастного паттерна анализировалась амплитуда (N75-P100) и латентность пика P100.

Наиболее характерным маркером зрительной дисфункции при болезни Паркинсона, особенно на ранних стадиях заболевания до медикаментозной коррекции, является увеличенная латентность пика P100 на зелено-черный контраст. Выявленная тесная корреляция параметров цветовых зрительных вызванных потенциалов с рядом ключевых клинических характеристик (возраст начала, форма заболевания, суточная потребность в леводопе и др.) косвенно свидетельствует о системности развивающегося в организме дофаминергического дефицита у пациентов с болезнью Паркинсона.

*Оптическая когерентная томография (ОКТ).* В исследование вошли 24 пациента, страдающих БП. Контрольную группу составили 20 обследованных, группа была сопоставима по возрасту и полу с группой БП. Оптическая когерентная томография проводилась на аппарате SOCT Soremicus HR (ОСТОРПОР Technology) с использованием протокола для оценки слоя нервных волокон сетчатки (СНВС) в перипапиллярной области. Оценивалась общая толщина СНВС в мкм, толщина СНВС в четырех квадрантах (височном, верхнем, назальном и нижнем), а также в 10 секторах.

В результате исследования уточнены структурные изменения сетчатки при БП и их диагностическая значимость при данном заболевании. К диагностически значимым биомаркерам БП отнесено истончение слоя нервных волокон сетчатки в нижнем квадранте перипапиллярной области.

*Транскраниальная сонография (ТКС).* В исследование стабильности гиперэхогенности черной субстанции (ГЧС) как ультразвукового биомаркера БП вошли 32 пациента. В данной группе исследование ТКС проводилось повторно - через  $7,3 \pm 1,2$  лет. Исследование выполняли на ультразвуковом сканере "Logiq 9" фирмы "GE" (США) в В-режиме с получением изображений и анализом следующих структур головного мозга: черной субстанции, третьего и боковых желудочков. Патологическим значением площади ГЧС считалась величина  $\geq 20$  мм<sup>2</sup>.

В работе подтверждена стабильность площади ГЧС на этапе моторных нарушений БП, то есть площадь ГЧС не меняется на протяжении, как минимум, 5-летнего периода наблюдения. Это позволяет использовать данный биомаркер как для диагностики болезни Паркинсона на любых стадиях, так и в качестве основы для формирования группы риска.

*Исследование продромальной стадии БП.* В группу риска БП вошли 37 человек – 22 клинически здоровых носителя ГЧС и 15 клинически здоровых носителей паркинсонических мутаций. Также была сформирована контрольная группа, сопоставимая по полу и возрасту с группой риска, из 21 человек, у которых не выявлены ГЧС и не обнаружены исследуемые паркинсонические мутации. В группах проводился поиск продромальных маркеров БП – продромальных проявлений заболевания: гипосмии, расстройства поведения в фазе сна с быстрыми движениями глаз, депрессии, констипации и легкой паркинсонической симптоматики. Отдельно в группе

риска проведены дополнительные исследования: ЦЗВП, ОКТ и саккадометрия.

В группе риска у лиц с предположительно продромальной стадией БП установлена большая частота встречаемости гипосмии, чем в контрольной группе, выявлена связь депрессии с легкой паркинсонической симптоматикой и с расстройством поведения в фазу сна с быстрыми движениями глаз, показана связь патологического истончения сетчатки с удлиненной латентностью Р100 на зелено-черный цветовой паттерн. В группе риска показано накопление продромальных маркеров с возрастом и при динамическом наблюдении группы риска спустя >5-летний промежуток времени. Таким образом, накопление взаимосвязанных биомаркеров БП с течением времени подтверждает возможность объективизации латентной (продромальной) стадии нейродегенеративного процесса и реализации стратегии популяционного скрининга лиц, предрасположенных к развитию болезни Паркинсона.

Автором проведен большой объем клинических и инструментальных исследований. Методическая часть работы соответствует специализации. Выводы и практические рекомендации отражают ответы на вопросы, поставленные в задачах исследования.

Диссертация изложена на 317 листах машинописного текста, работа содержит 37 таблиц, иллюстрирована 62 рисунками. Список литературы включает 26 отечественных и 366 зарубежных источников.

**Сведения о полноте опубликованных результатов:** По теме диссертации опубликовано 77 научных работ, в том числе 16 статей в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, получено 3 патента.

**Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации:** Автореферат диссертации Е.Ю.Федотовой соответствует основным положениям диссертации с отражением актуальности темы, научной новизны, основных результатов и их обсуждения, выводов и практических рекомендаций.

**Замечания:** В качестве комментариев – создается впечатление, что раздел «Генетика атипичного паркинсонизма» несколько выбивается из контекста и логики построения исследования, требуя, на мой взгляд, более глубокого анализа и отдельного изучения. А его отсутствие несколько не умолит достоинств работы.

В процессе знакомства с диссертационным исследованием, возникли вопросы: 1. При исследовании цветовых вызванных потенциалов сравнивались две подгруппы пациентов с болезнью Паркинсона: получавшие и не получавшие специфическое лечение. Подгруппы отличались по продолжительности болезни и стадии. Насколько правомочно сравнение гетерогенных групп?

2. Как можно объяснить отсутствие соответствия фенотипов болезни Паркинсона определенным генетическим мутациям? Особенно, если речь идет о моногенных заболеваниях с известным патогенетическим механизмом

(кодирующим определенный белок с изученной функцией). Чем обусловлено такое клиническое разнообразие по возрасту дебюта, течению, набору моторных и немоторных симптомов?

Однако, высказанные пожелания не умоляют общей высокой оценки работы. Принципиальных замечаний к содержанию работы и ее оформлению нет.

### Заключение

Таким образом, диссертационная работа Федотовой Екатерины Юрьевны на тему «Первичный паркинсонизм: молекулярно-генетический анализ, биомаркеры, продромальная стадия» является законченной и самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи – совершенствование диагностики первичного паркинсонизм. Результаты диссертационного исследования имеют важное практическое и теоретическое значение для неврологии.

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в ред. Постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г.), предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.11 – Нервные болезни.

#### **Официальный оппонент:**

Доктор медицинских наук  
(14.01.11- Нервные болезни)

профессор кафедры неврологии и реабилитации


ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский

университет» Министерства здравоохранения

Российской Федерации  Залялова Зулейха Абдуллазяновна

Даю согласие на сбор, обработку и хранение

персональных данных

 Залялова Зулейха Абдуллазяновна


420012 г. Казань, ул.Бутлерова, д.49

Телефон: (843) 236-06-52

E-mail: rector@kazangmu.ru

30.11.18



  
заверяю.  
Совета ФГБОУ  
здрава России,  
О.П.Радченко  
20 18 г.