

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации **Мазановой Натальи Николаевны** «Оптимизация алгоритма молекулярной диагностики болезни Фабри в Российской Федерации», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Особенностью болезни Фабри, редкого заболевания с X-сцепленным наследованием, принадлежащего к группе наследственных болезней обмена, является дефицит фермента альфа галактозидазы А, обусловленный патогенными вариантами в гене *GLA*. Широкий спектр клинических проявлений болезни Фабри, представленный автором в группе пациентов с классической формой, затрудняет своевременную диагностику заболевания, приводя к позднему назначению патогенетической терапии, предотвращающей глубокую инвалидизацию пациентов. Автором в диссертационном научном исследовании на большой выборке пациентов (n=10300) с подозрением на классическую форму, продемонстрировано успешное использование глоботриаозилсфингозина (лизоз-ГБЗ) в диагностике болезни Фабри, в качестве теста первого уровня; в свою очередь, успешное использование высокопроизводительного секвенирования в качестве теста первого уровня продемонстрировано на выборке пациентов (n=1956) с подозрением на атипичную форму болезни Фабри. Примененные в работе современные биохимические и молекулярно-генетические методы диагностики, включающие секвенирование кодирующих и прилегающих интронных областей гена *GLA* по Сэнгеру, таргетное высокопроизводительное секвенирование панели, состоящей из 17 генов, высокоэффективная жидкостная хроматография и tandemная масс-спектрометрия, а также тщательно подобранные методы статистической обработке полученных данных не оставляют сомнений в достоверности результатов исследования и практической ценности диссертационной работы.

Автореферат Мазановой Н.Н. построен по традиционному принципу, который соответствует требованиям Высшей Аттестационной Комиссией (ВАК) Российской Федерации к оформлению авторефератов на соискание ученой степени. Адекватно спланированные и выполненные лабораторные тесты обеспечивают полноту достижения цели исследования. Достоверность данных, логичность и обоснованность выводов работы не вызывают сомнений. Выводы и практические рекомендации, основанные на результатах работы, сформулированы лаконично и представляют особую ценность не только для фундаментальной науки, но и для практической медицины. Высокий уровень биоинформатического анализа и статистической обработки данных подтверждает достоверность этих результатов.

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ: в том числе в иностранных журналах, входящих в базу данных Scopus и Web of Science.

Результаты исследовательской работы внедрены в практику лаборатории медицинской геномики Медико-генетического центра ФГАУ «НМИЦ здоровья детей»



## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Мазановой Натальи Николаевны «Оптимизация алгоритма молекулярной диагностики болезни Фабри в Российской Федерации», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Диссертационное исследование Мазановой Н.Н. посвящено изучению роли биохимических и генетических механизмов в патогенезе классической и атипичной формы болезни Фабри. Известно, что снижение активности  $\alpha$ -галактозидазы А, приводящее к накоплению глоботриаозилсфингозина, обусловлено мутациями и некодирующей последовательностей нуклеотидов гена *GLA*. В связи с этим автором была поставлена цель диссертационного исследования, которая заключалась в осуществлении сравнительного анализа биомаркеров  $\alpha$ -галактозидазы А и глоботриаозилсфингозина. Для достижения поставленной цели автор использовал комплексный подход и современные методы диагностики: tandemную масс-спектрометрию для определения активности фермента и концентрации субстрата, а также молекулярно-генетические методы диагностики для выявления патогенных вариантов гена *GLA* методом секвенирования по Сэнгеру при классической форме болезни Фабри и высокопроизводительного секвенирования при атипичной форме болезни Фабри. Актуальность и научная новизна исследования не вызывают сомнения.

В автореферате диссертации Мазановой Н.Н. изложены научно-обоснованные достижения фундаментальной и прикладной генетики, свидетельствуя о том, что научная работа на тему «Оптимизация алгоритма молекулярной диагностики болезни Фабри в Российской Федерации» обладает бесспорной актуальностью, научной новизной и практической ценностью. Сформулированные пять задач полностью раскрывают цель работы. Полученные автором результаты соответствуют поставленной цели работы, сопоставимы с мировыми научными данными и представляют реальный практический интерес для корректной диагностики и патогенетического лечения пациентов с болезнью Фабри. Основные положения и выводы логично вытекают из проведенного исследования и в полной мере отражают его значимость.

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в которых описаны все основные результаты, полученные в ходе выполнения работы.

Результаты исследовательской работы внедрены в практику работы лаборатории медицинской генетики ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также

используются в учебном процессе кафедры медицинской генетики ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Учитывая актуальность выбранной темы и высокий научно-методический уровень проведения исследований, можно заключить, что диссертация Мазановой Н.Н., выполненная под руководством д.м.н., профессора Асанова А.Ю. при научном консультировании д.б.н. Савостьянова К.В., полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024г., а её автор, Мазанова Наталья Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Главный научный сотрудник отдела Клинической генетики  
ОСП «Научно-исследовательский клинический институт  
педиатрии и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева»  
ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский  
университет имени Н.И. Пирогова» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации  
доктор медицинских наук  
05.02.2025 г.

Николаева Екатерина Александровна

Подпись д.м.н. Е.А. Николаевой заверяю  
Ученый секретарь ФГАУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова  
Минздрава России, к.м.н., доцент



Демина Ольга Михайловна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 117997, г. Москва, Островитянова, дом 1.  
Телефон: + 7 (495) 434 84 64;  
E-mail: rsmu@rsmu.ru

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Мазановой Натальи Николаевны «Оптимизация алгоритма молекулярной диагностики болезни Фабри в Российской Федерации», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Актуальность изучения причин развития редких (орфанных) болезней способствует оптимизации их ранней диагностики, позволяющей приостановить необратимые изменения органов и тканей пациентов за счет получения ферментозаместительной, субстратредуцирующей и генной терапии. Научная диссертационная работа Мазановой Н.Н., посвящена анализу различных биомаркеров и используемых для диагностики детей и взрослых с подозрением на атипичную и классическую формы болезни Фабри. В диссертационной работе автор использовал стратегию селективного скрининга пациентов, биологический материал которых поступал из подавляющего большинства субъектов Российской Федерации. В исследование было включено значительное число (более двенадцати тысяч) пациентов с подозрением на болезнь Фабри. Для комплексного анализа этой выборки были разработаны и адаптированы соответствующие алгоритмы диагностики, включающие современные технологии высокоэффективной жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии, секвенирования по Сэнгеру и высокопроизводительного секвенирования.

Достижение цели исследования и достоверность полученных результатов обеспечивают внушительные размеры изученной выборки и адекватные методы исследования. Основные положения, выводы и практические рекомендации в полной мере соответствуют выполненным задачам. Автореферат Мазановой Н.Н., представленный как фундаментальная научная работа, является существенным научным достижением и вносит значительный вклад в российскую генетику. Научные результаты и их обсуждение сформулированы наукоемко и последовательно изложены.

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ в рецензируемых журналах (из перечня ВАК), что лишний раз подчеркивает достоверность, а также теоретическую и практическую ценность полученных данных.

В автореферате изложены научно-обоснованные решения, внедрение которых вносит несомненный вклад в развитие медицины и системы здравоохранения Российской Федерации. Результаты исследовательской работы внедрены в практику работы Медико-генетического центра ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также

используются в учебном процессе кафедры медицинской генетики ФГБОУ ДПО РМАПО Минздрава России.

Учитывая актуальность выбранной темы и высокий научно-методический уровень проведения исследований, можно заключить, что диссертация Мазановой Н.Н. выполненная под руководством д.м.н., профессора Асанова А.Ю., при научном консультировании д.б.н. Савостьянова К.В., полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024г., а её автор, Мазанова Наталья Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Начальник лаборатории молекулярной  
генетики наследственных болезней ККНБΙΚС-ПТ  
НИЦ «Курчатовский институт», доктор биологических  
наук, профессор



Сломинский П.А.

06 февраля 2025г.

Подпись Сломинского П.А. заверяю  
Первый заместитель главного ученого  
секретаря НИЦ «Курчатовский институт»



Борисов К.Е.

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации Мазановой Натальи Николаевны «Оптимизация алгоритма диагностики болезни Фабри в Российской Федерации» представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности

### 1.5.7. Генетика

В Российской Федерации болезнь Фабри входит в Перечень жизнеугрожающих и хронических прогрессирующих редких (орфанных) заболеваний, приводящих к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности, утвержденный Постановлением Правительства РФ от 26 апреля 2012 г. № 403, поэтому диссертационное исследование Мазановой Н.Н., посвященное изучению роли биохимических и генетических механизмов в развитии болезни Фабри, а также оптимизации алгоритмов диагностики классической и атипичной формы болезни Фабри, является актуальным. Накопление знаний по лизосомальной активности фермента  $\alpha$ -галактозидазы А и концентрации биомаркера глоботриаозилсфингозина обладает исключительной важностью для своевременной корректной диагностики болезни Фабри, у пациентов с классической и атипичной формой. В связи с этим целью работы является оптимизации существующего алгоритма диагностики классической формы болезни Фабри и разработки алгоритма диагностики для атипичной формы болезни, на основе исследования диагностической эффективности биохимических и молекулярно-генетических методов верификации диагноза болезни Фабри в Российской Федерации. Для достижения заявленной цели автор использовал комплексный подход и современные методы диагностики, такие как tandemная масс-спектрометрия для определения активности фермента и концентрации субстрата, а также секвенирование по Сэнгеру и высокопроизводительное секвенирование для подтверждающей молекулярно-генетической диагностики классической и атипичной форм болезни Фабри, соответственно.

Достаточный объем материала, его новизна и адекватно выполненные лабораторные исследования обеспечивают полноту достижения цели исследования, скрининга. Полученные автором результаты сопоставимы с мировыми научными данными и представляют несомненный научный и практический интерес, позволяют повысить эффективность диагностики и патогенетического лечения пациентов с болезнью Фабри в России и служат основой для развития методов диагностики лизосомных болезней накопления в целом.

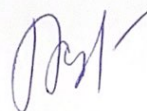
Автореферат Мазановой Н.Н. построен по традиционному плану и представлен как фундаментальная работа, полностью соответствует требованиям ВАК РФ к оформлению авторефератов на соискание ученой степени кандидата наук. Цель и задачи диссертационного исследования сформулированы четко и грамотно. Достоверность результатов, логичность и обоснованность выводов работы не вызывают сомнений, а практические рекомендации органично вытекают из представленного материала. Выводы полностью соответствуют цели и поставленным задачам.

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ: в том числе 2 статьи в рецензируемых журналах (из перечня ВАК) и 1 работа в материалах научной конференции. 3 статьи напечатаны в журналах, входящих в базу данных Scopus и Web of Science.

Учитывая актуальность выбранной темы и высокий научно-методический уровень проведения исследований, можно заключить, что диссертация Мазановой Н.Н., выполненная под руководством д.м.н., профессора Асанова А.Ю. и научного консультанта д.б.н. Савостьянова К.В. полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024г., а её автор, Мазанова Наталья Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика (медицинские науки).

Согласна на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета ПДС 0300.005 на базе ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» и их дальнейшую обработку.

Главный научный сотрудник,  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение «Национальный медицинский  
исследовательский центр эндокринологии»  
Министерства здравоохранения РФ,  
лаборатория геномной медицины,  
доктор биологических наук, профессор



Хусаинова Рита Игоревна

04.02.2025 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Юридический адрес: 117292, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, д.11.  
Телефон: 8 (495) 500-00-90, e-mail: nmic.endo@endocrincentr.ru,  
сайт: <https://www.endocrincentr.ru>

Подпись Хусаиновой Риты Игоревны заверяю

Ученый секретарь, главный научный сотрудник,  
профессор кафедры эндокринологии высшего  
и дополнительного профессионального образования  
ФГБОУ ВО «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России



Дзеранова Лариса Константиновна

## **ОТЗЫВ**

**на автореферат диссертационной работы Мазановой Натальи Николаевны на тему: «Оптимизация алгоритма молекулярной диагностики болезни Фабри в Российской Федерации», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика.**

### **Актуальность темы**

Болезнь Фабри – тяжелое наследственное заболевание из группы лизосомных болезней накопления. Согласно последним данным, заболевание характеризуется довольно высокой частотой – 1:40000 новорожденных. Разработка методов патогенетического лечения и регистрация препаратов ферментозаместительной терапии делают особенно важным вопрос точного установления редкого орфанного заболевания. Клинические проявления болезни Фабри отличаются полиморфизмом с преимущественным поражением ряда систем организма. Вначале патологического процесса отчетливые клинические признаки могут отсутствовать, что определяет трудности установления диагноза по клиническим критериям. Указанные факторы обосновывают безусловную актуальность диссертационного исследования, посвященного оптимизации лабораторной диагностики болезни Фабри с классической и атипичной формой.

### **Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов**

Автором на большой группе тестированных пациентов ( $n=12256$ ), имевших монофакторные проявления болезни Фабри, показано, что накапливаемый в организме метаболит глоботриаозилсфингозин (лизо-Гб3) является биомаркером теста первого уровня при классической форме болезни Фабри. Завышение биомаркера лизо-Гб3 является основанием для включения пациентов в группу риска для дальнейшей молекулярно-генетической

диагностики при исследовании гена *GLA*. Установлена высокая чувствительность 100% и специфичность 100% малоинвазивного метода определения концентрации лизо-Гб3 в сухих пятнах крови и пригодность его использования для контроля патогенетической терапии. Анализ клинико-генотипических корреляций продемонстрировал гендерную зависимость этого показателя.

### **Достоверность и обоснованность научных положений, полученных результатов, выводов и практических рекомендаций**

Проведенные молекулярно-генетические исследования включали выделение геномной ДНК, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и исследование кодирующих и прилегающих интронных областей гена *GLA* методом секвенирования по Сэнгеру при классической форме. В случае подозрения на атипичную форму болезни Фабри использовалась технология высокопроизводительного секвенирования состоящая из 17 генов в качестве теста первого уровня, показавшая эффективность в детекции мутаций гена *GLA* у больных с патологией гипертрофической кардиомиопатией.

В результате применения разработанного автором комплекса исследований и оптимизированного алгоритма диагностики болезни Фабри было выявлено у 88 пациентов: у 28 пробандов с типичной формой, 52 их родственников и у 8 пробандов с атипичной формой заболевания, что дает основание для проведения эффективной терапии. Генетическими исследованиями установлено молекулярное разнообразие при отсутствии мажорных мутаций гена *GLA* у контингента больных в РФ. При этом обнаружены новые патогенные варианты гена *GLA*, не описанные в базе HGMD и составившие около 1,0% от всех описанных в ней мутаций данного гена, приводящих к болезни Фабри.

### **Структура и содержание диссертационной работы**

Автореферат диссертации в полной мере отражает содержание и суть диссертации, выполнен на современном научном уровне, раскрывает

научную новизну, положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации. Материал изложен доступно и последовательно. Принципиальных замечаний к содержанию автореферата нет. По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, из которых 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК. Основные положения и результаты неоднократно представлены на отечественных и международных конференциях. И 3 статьи напечатаны в иностранных журналах для соискателей ученой степени кандидата или доктора медицинских наук, входящих в базу данных Scopus и Web of Science. Результаты исследовательской работы внедрены в практику и применяются при работе Консультационного-диагностического центра ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также используются в учебном процессе кафедры медицинской генетики ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

### **Заключение**

Вышеизложенное позволяет считать, что на основании автореферата, диссертационная работа Мазановой Н.Н. «Оптимизация алгоритма молекулярной диагностики болезни Фабри в Российской Федерации» представляет собой самостоятельное исследование и содержит решение важной научной задачи, что соответствует требованиям предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, согласно п.2.2 раздела II Положения о присуждения ученой степеней в федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № УС-1 от 22.01.2024г.;

И полностью соответствует требованиям п.9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (с изменениями в редакции постановлений правительства Российской Федерации №335 от

21.04.2016г., №748 от 02.08.2016г., № 650 от 29.05.2017г., № 1024 от 28.08.2017г., № 1168 от 01.10.2018г., № 426 от 20.03.2021 г., № 1539 от 11.09.2021 г., №1690 от 26.09.2022 г.), а сам автор, Мазанова Наталья Николаевна, заслуживает присвоения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Заместитель директора по лечебной  
работе с детьми грудного и раннего  
возраста ФГБУ «НМИЦ ССХ им.  
А.Н. Бакулева» Минздрава России,  
заведующий отделом кардиохирургии  
новорожденных и детей  
младенческого возраста, главный  
внештатный детский специалист  
сердечно-сосудистый хирург  
Минздрава РФ, врач сердечно-  
сосудистый хирург, доктор  
медицинских наук, врач высшей  
категории, профессор (3.1.15)



Ким А.И.

Подпись Кима А.И. заверяю.

Учёный секретарь ФГБУ «НМИЦ  
ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава  
России, доктор медицинских наук,  
профессор



Попов Д.А.

121552, Москва, Рублевское шоссе, д. 135. +7 (495) 268-03-28,  
info@bakulev.ru