

Отзыв официального оппонента

**доктора медицинских наук, профессора, заведующего лабораторией
патологии клетки при критических состояниях**

**Научно-исследовательского института общей реаниматологии имени
В.А. Неговского Федерального научно-клинического центра реаниматологии
и реабилитологии Голубева Аркадия Михайловича**

**на диссертационную работу Сергеевой Светланы Павловны
«Закономерности изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в
остром периоде ишемического инсульта», представленную на соискание
ученой степени доктора медицинских наук по специальностям**

3.3.3. Патологическая физиология, 3.1.24. Неврология

Актуальность темы диссертации. Диссертация Сергеевой С.П. посвящена решению актуальной проблемы современной медицины: выявлению роли и закономерностей механизмов регуляции апоптоза нейронов коры головного мозга в остром периоде ишемического инсульта. Апоптоз считается одним из основных механизмов гибели нейронов при повреждениях головного мозга разной этиологии, в том числе при развитии ишемического инсульта (ИИ). Тяжесть клинических проявлений при развитии инсульта зависит от объема повреждения головного мозга, его локализации и количества погибших нейронов. Исходя из этого, в экспериментальных и клинических исследованиях снижение эффективности механизмов апоптоза нейронов при различных воздействиях трактуется как направленное на выздоровление пациента. Однако, общебиологическая роль апоптоза заключается также и в регуляции клеточного состава тканей. В нервной ткани головного мозга апоптоз также является одним из значимых механизмов нейропластичности. Такое расхождение в трактовке роли апоптоза в патогенезе повреждений головного мозга разной этиологии, и в особенности - ишемического инсульта, определенно представляет актуальную проблему фундаментальной медицины в целом и патофизиологии в частности. Предложенный Сергеевой С.П. подход к представлению об апоптозе не только

как о механизме повреждения, но и как о неспецифическом механизме адаптации к последствиям ишемического повреждения головного мозга разрешает это противоречие.

Инсульт является одной из самых распространенных причин инвалидизации и стойкой утраты трудоспособности населения во всех странах мира. Его высокая распространенность, а также значительные ограничения в применении единственно эффективного способа лечения (реперфузии пораженного участка мозга) аргументируют актуальность темы диссертационного исследования С.П. Сергеевой также и для неврологии.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций. Выносимые на защиту научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации обоснованы результатами математического анализа полученных данных, при проведении которого автором выявлены существенные различия между группой исследования (пациенты в остром периоде ишемического инсульта) и группой сравнения (добровольцы, соответствующие критериям включения в группу контроля), а также между подгруппами пациентов с благоприятным и неблагоприятным исходами ишемического инсульта. Полученные данные сопоставимы с результатами других отечественных и зарубежных исследователей, а также с научными знаниями в других отраслях медицинской науки. Сергеевой С.П. для этого проанализирован большой объем литературных данных: в список литературных источников включены 130 работ на русском и 529 на английском языках.

Достоверность и новизна результатов исследования. Достоверность результатов диссертационного исследования обеспечена достаточным размером выборки, подтверждается точностью регистрации первичной документации, в которой полностью отражен объем клинических, лабораторных, инструментальных, гистологических, морфометрических исследований, использованием адекватных статистических методов и программного обеспечения. Расчет объема выборки проводился уже на этапе планирования

исследования. Уровень значимости для отвержения нулевой гипотезы был задан как 0,05, мощность - 80%. Высокая достоверность результатов обеспечена также применением современных стандартизированных общепринятых методов, валидных шкал и строгим соблюдением методик их использования. Работа выполнена на сертифицированном оборудовании с использованием качественных реактивов и других расходных материалов, строго соблюдались инструкции работы с ними. Дизайн исследования адекватен поставленной цели и задачам.

Автором получены новые данные о закономерностях динамики концентрации регулирующих апоптоз молекул системы Fas (sFas, sFasL, CD95 на CD3+ лимфоцитах) и TNF α (TNF α , sTNF-R1) периферической крови пациентов в остром периоде ишемического инсульта. Выявлено существенное влияние величины и динамики соотношения концентраций факторов гуморальной регуляции апоптоза (sFasL и sFas; TNF α и sTNF-R1) на особенности и закономерности клинического течения, а также прогноз исхода острого периода ИИ. На основании этого разработан способ прогнозирования исхода острого периода ишемического инсульта, новизна которого подтверждена патентом (Патент 2517471).

Автором показано, что роль регулирующих апоптоз лиганд-рецепторных соотношений системы Fas и TNF α в патогенезе ИИ зависит от времени, прошедшего с момента его начала, а также от функционального исхода острого периода ИИ. Впервые доказана взаимосвязь динамики концентрации гормонов стресс-реализующей системы (адренокортикотропного гормона, кортизола, адреналина, норадреналина) и вышеуказанных молекул гуморальной регуляции апоптоза, их влияние на динамику неврологического дефекта и психоэмоционального состояния пациентов после ИИ. В коре головного мозга у пациентов, умерших в остром периоде ИИ, выявлено закономерное - пропорциональное приближенности к ишемическому очагу - увеличение доли нейронов, экспрессирующих регулирующие апоптоз молекулы (каспазу 3, каспазу 8, p53, Fas, Notch1) нейронов по сравнению с контролем, а также уменьшение доли нейронов, экспрессирующих молекулы, связанные с их выживанием и

адаптацией (FAIM2, c-fos, ERK $\frac{1}{2}$, MAP2). В работе доказано, что у пациентов при ИИ повышение уровня кортизола в крови сочетается с увеличением доли нейронов в коре головного мозга, подверженных апоптозу. Установлено наличие корреляции между уровнем в периферической крови растворимых молекул системы Fas и долей нейронов, имеющих на своей поверхности их трансмембранную форму. Также выявлены их связи с экспрессией в нейронах каспаз и маркеров нейрональной активации FAIM2, c-fos, ERK $\frac{1}{2}$, MAP2.

Значимость для науки и практики полученных результатов. Результаты работы имеют значимость для фундаментальной медицины и для клинической неврологии. Автор обоснованно определяет ишемию головного мозга как один из видов общепатологических процессов, связанных с нарушением кровообращения в центральной нервной системе, а апоптоз как типовой неспецифический механизм адаптации к последствиям ишемического повреждения головного мозга. В работе представлены данные, позволяющие сделать вывод о том, что активация и нарастание масштаба апоптоза нейронов может приводить как к усугублению тяжести состояния пациента, так и к восстановлению полученного после ИИ неврологического дефекта. Такой подход стратегически важен для трактовки результатов экспериментов по разработке новых способов лечения ИИ, направленных на модуляцию процесса апоптоза. Он важен также и для тактики ведения пациентов с ИИ в острейшем, остром и последующих периодах. В настоящее время, несмотря на большие усилия исследователей и клиницистов, не существует эффективных с позиции доказательной медицины способов лекарственной нейропротекции.

С.П. Сергеевой выявлены закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов коры головного мозга в остром периоде ишемического инсульта и способы целенаправленного на них воздействия, пригодные как для экспериментальной, так и для клинической практики. Основной принцип управления механизмами регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ, по выводам автора, заключается в последовательной модификации совокупности

параметров микросреды их окружения посредством целенаправленного моделирования и последовательной модификации совокупности факторов реабилитационной макросреды окружения пациента.

Таким образом, на основании самостоятельно выполненных исследований автором разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение актуальной проблемы фундаментальной и клинической медицины, имеющей важное практическое и теоретическое значение.

Внедрение результатов исследования в практику. Рекомендую использовать результаты и выводы, полученные С.П. Сергеевой в диссертационном исследовании в педагогическом процессе студентов медицинских вузов и клинических ординаторов, проходящих подготовку на кафедрах неврологии, клинической патофизиологии, реабилитологии; при планировании и проведении научных исследований в области изучения механизмов повреждения и восстановления головного мозга, а также оценки влияния на них различных факторов, включая фармакологические субстанции; в сосудистых отделениях для прогнозирования исхода острого периода ИИ и совершенствования тактики лечения и ранней реабилитации таких пациентов. Результаты и выводы настоящей работы внедрены в учебный процесс на кафедре нервных болезней лечебного факультета ФГБОУ ВО МГМСУ имени А.И. Евдокимова Минздрава России при обучении студентов и курсантов на факультете последипломного образования, а также на кафедре патофизиологии, на кафедре патологии человека Института клинической медицины и на кафедре патологии Института фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Положения, сформулированные по результатам диссертационного исследования, внедрены в научный экспериментально-исследовательский процесс в отделе передовых клеточных технологий ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебно-

профилактический и реабилитационный процесс неврологического отделения Федерального медицинского биофизического центра имени А.И. Бурназяна ФМБА России, неврологического отделения Больницы Центросоюза Российской Федерации, неврологического отделения особого структурного подразделения Российского геронтологического научно-клинического центра ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Полнота изложения результатов диссертации в опубликованных работах.

Основные результаты диссертации опубликованы в научной печати в виде 18 статей, из которых 17 статей вышли в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, утвержденный ВАК при Минобрнауки России, а также индексируемых в международных и российских реферативных базах данных. Автором получен 1 патент на способ прогнозирования исхода острого периода ишемического инсульта. Статьи и патент соответствуют теме диссертационного исследования и в полной мере отражают его содержание.

Автореферат соответствует основным положениям и в полной мере отражает содержание диссертации.

Содержание и оформление диссертации. Диссертация построена по традиционному плану и изложена на 422 страницах машинописного текста. Работа включает оглавление, введение, описание степени разработанности проблемы апоптоза нейронов и нейрогуморальных механизмов регуляции при ишемическом инсульте на основе анализа современной научной литературы, главы «Материалы и методы исследования», пяти глав отражающих результаты собственных исследований, главы с обсуждением полученных результатов. Эти разделы иллюстрированы 95 рисунками и 35 таблицами, представлены 2 клинических примера. Далее в работе следуют заключение, выводы, практические рекомендации и список сокращений. В завершении приведен библиографический указатель, включающий 130 источников на русском и 529 — на английском языках. В своей работе автор использовал актуальную современную научную

литературу по обеим заявленным научным специальностям (3.3.3. Патологическая физиология и 3.1.24. Неврология).

Названия всех глав отражают их содержание. Четко определена заявленная цель научного исследования - выявить роль и закономерности механизмов регуляции апоптоза нейронов коры головного мозга в остром периоде ишемического инсульта для расширения представлений о его этиологии и патогенезе, повышения эффективности диагностики, лечения и профилактики.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы, излагает цель и постановку задач исследования, описывает его теоретическую и практическую значимость, приводит 9 положений выносимых на защиту.

В первой главе освещены основные аспекты, характеризующие современные представления об апоптозе нейронов и нейрогуморальных механизмах регуляции при ишемическом инсульте, обоснована актуальность и новизна исследования. Обзор литературы полный, подробный, насыщенный.

Во второй главе описаны объекты, материалы и методы диссертационного исследования. В него были включены 155 пациентов с ИИ из 948 обследованных автором пациентов, поступивших по каналу скорой медицинской помощи в неврологический стационар и отделение реанимации ГKB № 6 и № 36, в соответствии с четко изложенными в главе критериями. В главе описана структура и дизайн исследования. Используемые соискателем методы современны, реализованы на высоком методическом уровне, соответствуют целям, задачам работы, а также установленным в мировом медицинском сообществе этическим принципам.

В последующих пяти главах приводится полное и хорошо иллюстрированное описание результатов исследования. Описаны закономерности динамики концентрации растворимых регулирующих апоптоз молекул систем Fas и TNF α и мембранных рецепторов Fas (CD95) на CD3-позитивных лимфоцитах периферической крови пациентов в остром периоде ишемического инсульта, а

также их влияние на его течение и исход. Представлены закономерности динамики содержания гормонов стресс-реализующей системы (АКТГ, кортизола, адреналина, норадреналина) и интерлейкина-6 в периферической крови, а также выраженности стресса, тревоги, депрессии у пациентов в остром периоде ишемического инсульта. Описана взаимосвязь уровней гормонов стресс-реализующей системы и клинических проявлений у пациентов в остром периоде ишемического инсульта. В седьмой главе приведены патоморфологические данные, демонстрирующие закономерности апоптоза нейронов в головном мозге при ишемическом инсульте. Так же в ней представлены результаты корреляционного анализа показателей периферической крови пациентов при поступлении в стационар и морфометрических данных, характеризующих изменения головного мозга после их смерти.

В восьмой главе автор обсуждает полученные результаты, а также производит сопоставление своих результатов с данными современной научной литературы. Здесь изложена авторская концепция о регуляции и роли процесса апоптоза нейронов в головном мозге в остром периоде ИИ, определено значение апоптоза нейронов головного мозга в патогенезе острого периода ИИ, сформулировано представление о системе управления механизмами регуляции апоптоза нейронов головного мозга в остром периоде ИИ.

В заключении автор подводит итоги проделанной работы. Апоптоз нейронов представлен автором как неотъемлемый компонент восстановления утраченных после ИИ функций. При этом, в остром периоде ИИ он должен рассматриваться не только как облигатно негативное явление, но и как значимый саногенетический механизм, обеспечивающий адаптацию организма на всех уровнях организации живой материи к изменению окружающей и внутренней среды. Роль (значение) апоптоза нейронов в коре головного мозга при ИИ зависит от уровня рассмотрения системы (синапс, нейрон, нейронная сеть, нервная ткань головного мозга, целостный организм пациента, социум), а также от критериев оценки адаптивности ответа, задаваемых исследователем или врачом. Основной

принцип управления механизмами регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ИИ по мнению автора заключается в последовательной целенаправленной модификации совокупности показателей их микроокружения посредством создания и целенаправленной модификации совокупности факторов среды окружающей пациента («реабилитационной среды»). Приведенные далее выводы и практические рекомендации четко сформулированы, в полной мере обоснованы результатами проведенного автором исследования и соответствуют его задачам и цели.

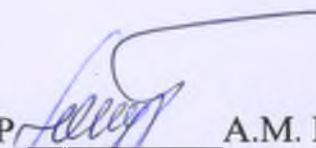
Диссертация Сергеевой С.П. написана с соблюдением требований ГОСТа к рукописям и содержит все необходимые разделы. В целом, работа выполнена в соответствии с требованиями ВАК Минобрнауки РФ. В ней встречаются незначительные дефекты: стилистические неточности и опечатки. Работа хорошо иллюстрирована, однако практически все авторские схемы и графики представлены в черно-белом цвете. Цветное решение облегчило бы восприятие представленного материала. В целом это не снижает качества работы и общей положительной оценки. Существенных замечаний по оформлению диссертационной работы не имею.

Заключение

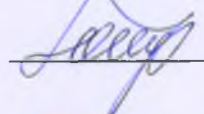
Диссертация Сергеевой Светланы Павловны на тему «Закономерности изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ишемического инсульта» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований и разработок осуществлено решение актуальной научной проблемы: выявление роли и закономерностей механизмов регуляции апоптоза нейронов коры головного мозга в остром периоде ишемического инсульта, что расширяет представления о его этиологии и патогенезе, повышает эффективность его диагностики, лечения и профилактики, имеет важное научно-практическое значение для патологической физиологии и неврологии.

По актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Сергеевой Светланы Павловны на тему «Закономерности изменения механизмов регуляции апоптоза нейронов в остром периоде ишемического инсульта» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно пп. 9-14 «Положение о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, от 01.10.2018 № 1168), а её автор Сергеева Светлана Павловна достойна присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 3.1.24. Неврология.

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий лабораторией патологии клетки
при критических состояниях НИИ общей
реаниматологии имени В.А. Неговского ФНКЦ РР

 А.М. Голубев

Даю согласие на сбор, обработку и хранение
персональных данных

 А.М. Голубев

Подпись А.М. Голубева ЗАВЕРЯЮ

Заместитель директора-руководитель
НИИ общей реаниматологии имени В.А. Неговского
ФНКЦ РР, д.м.н., доцент



А.Н. Кузовлев

26 сентября 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии” (ФНКЦ РР); 107031, г. Москва, ул. Петровка, д.25, стр.2; тел: 8 (495) 641-30-06; www.fnkrr.ru; e-mail: fnkrr@fnkrr.ru