

УТВЕРЖДАЮ

ректор учреждения образования
«Гомельский государственный
медицинский университет»
д.м.н., профессор

Стома И.О.
2024 г.

ОТЗЫВ

оппонирующей организации учреждения образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
по диссертационной работе Бойко Александра Васильевича
«Диагностика и лечение прогрессирования болезни Паркинсона (клинико-
экспериментальное исследование)», по специальности 14.01.11 – нервные
болезни (отрасль – медицинские науки), представленной к защите
на соискание учёной степени доктора медицинских наук

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите

Диссертационная работа Бойко Александра Васильевича. «Диагностика и лечение прогрессирования болезни Паркинсона (клинико-экспериментальное исследование)» посвящена одной из актуальных проблем неврологии и развивает направление ранней диагностики заболевания путём экспериментального моделирования на лабораторных животных, выявление лежащих в его основе патофизиологических механизмов и возможностей патогенетического лечения, в связи с чем она соответствует паспорту специальности 14.01.11 – нервные болезни (пункты 2, 4 и 5 области исследования паспорта специальности, утвержденного приказом Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 23 апреля 2018 г. № 116), отрасли 14.00.00 – медицинские науки, по которым она представлена к защите на соискание учёной степени доктора медицинских наук.

Актуальность темы диссертации

Болезнь Паркинсона (далее – БП) представляет собой прогрессирующее заболевание центральной нервной системы, не имеющее на сегодняшний день разработанного патогенетического лечения. В неврологической практике БП – второе по частоте нейродегенеративное заболевание после болезни Альцгеймера, и его часто составляет в среднем 20-21 на 100 тыс. человек или 1% среди лиц в возрасте старше 65 лет.

На сегодняшний момент этиологическими факторами БП считаются генетическая предрасположенность, которая установлена у 22-40% пациентов.

Однако семейные наследственные формы БП выявляются примерно в 8% случаев. У большинства пациентов регистрируется полигенная обусловленность. Патоморфологическими изменениями при БП являются агрегация α -синуклеина, митохондриальная и лизосомальная дисфункция, нарушение эндосомально-лизосомального трафика, нейровоспаление и активация иммунной системы, распространение α -синуклеина посредством внеклеточных везикул. При этом локальное распространение α -синуклеина на соседние клетки и ткани было доказано экспериментальными патоморфологическими исследованиями на лабораторных животных, а восходящее его влияние с началом в вегетативной сети кишечника и последующего вовлечения структур ствола головного мозга не получило подтверждения. В то же время отмечена связь накопления α -синуклеина и немоторных проявлений БП.

В последнее время не вызывает сомнений участие в патогенезе БП процессов нейровоспаления и иммунной активации. Впервые воспаление при БП, представленное активацией микроглии и повышением уровня цитокинов было описано в 1980 г. При этом было отмечено, что повышение уровня цитокинемии является фактором быстрой прогрессии БП. Однако на ранних стадиях процесса нейродегенерации вялотекущий воспалительный процесс может иметь как патогенные, так и протективные свойства, увеличивая клиренс аномальных протеиновых агрегатов. По мере прогрессирования заболевания протективный эффект хронического воспаления снижается. Участие иммунной системы в прогрессировании БП продемонстрировано путём выявления участия HLA генетических ассоциаций с риском БП. Также выявлена связь митохондриальной дисфункции БП.

Ранее проводимыми исследованиями доказано влияние воспалительных процессов в кишечнике и синуситов, изменение кишечного микробиома на развитие БП.

Однако, при чётком понимании зависимости немоторных феноменов БП от выявленных молекулярно-генетических механизмов, нет полного понимания их участия в прогрессировании болезни и способах патогенетического терапевтического воздействия.

В свою очередь понимание различий в патогенезе быстро и медленно прогрессирующих форм БП может указать точки приложения патогенетического лечения. На сегодняшний день известно, что более поздний возраст начала заболевания, лизосомальная дисфункция и провоспалительный статус способствуют более быстрому развитию симптомов БП. Однако влияет ли преобладание каждого из механизмов на скорость прогрессирования заболевания остаётся недостаточно изученным. Дополнительным аспектом патогенеза является воздействие внешних факторов, таких как: инфекционные агенты, воздействие тяжёлых металлов, пестицидов.

Недостаточное понимание множественного патогенеза БП приводит к отсутствию патогенетического таргетного лечения. В настоящее время изучаются возможности применения на ранних стадиях заболевания олигосмысловых нуклеотидов, лекарственных средств, нарушающих агрегацию

цепей α -синуклеина, иммуномодулирующего лечения. Однако современный стандарт лечения направлен на редукцию симптомов и максимальное продление качественной жизни.

Клеточная терапия БП имеет под собой определённое патогенетическое основание. В ранее проводимых исследованиях было показано, что использование мезенхимальных стволовых клеток (далее – МСК), способных трансформироваться в различные зрелые клетки в последующем, у пациентов с БП обусловлено их способностью улучшать клиренс α -синуклеина, регулировать активность лизосом. Было показано, что клеточная терапия на основе МСК может быть использована для модуляции воспаления и обеспечения регенерации тканей. Описан иммунорегуляторный эффект МСК. Противовоспалительных цитокинов (трансформирующий фактор роста бета-1, простагландин E2, фактор роста гепатоцитов, индоламин 2,3 диоксигеназа, оксид азота, интерлейкин-4 и интерлейкин-10) и снижению провоспалительных (интерлейкин-6, интерлейкин-1бета, фактор некроза опухоли альфа) в ликворе и сыворотке крови. Описывается смена вектора провоспалительного статуса микроглии при использовании МСК, их нейротрофические эффекты, опосредованные синтезом нейротрофического фактора глиальных клеток, фактора роста нервов, нейротрофического фактора мозга. Способы введения МСК дискутабельны.

Таким образом, выявление морфологических особенностей состояния головного мозга при моделировании БП с применением лабораторных и изучением клинических проявлений на ранних стадиях, а также оценка действия МСК в доклинических и клинических испытаниях определило актуальность настоящего исследования,

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту

Исследования соискателя Бойко А.В. выполнено в два этапа. В экспериментальном разделе работы проведено моделирование паркинсонизма у белых крыс ($n=168$) и определена возможность использования аллогенных полипотентных МСК. Во второй, клинической части работы, приняло участие 207 пациентов с БП 1-3 степени тяжести по Хен-Яру и 34 пациента контрольной группы.

Дизайн исследования – смешанный, что соответствует цели и задачам диссертационной работы.

Научная новизна полученных результатов состоит в том, что автором:

впервые установлены единые гистологические изменения в чёрной субстанции при морфологическом посмертном исследовании лабораторных животных, подвергшихся воздействию липополисахарида и нейротоксического агента (ротенон) в виде нейродегенеративных изменений и появления включений, характерных для БП – телец Леви;

впервые выявлено различие в клинической картине экспериментального паркинсонизма у лабораторных животных подвергшихся воздействию

липополисахарида и нейротоксического агента (ротенон) в виде преобладающей ригидности у крыс, подвергшихся воздействию токсического агента, при сходных морфологических изменениях в нейронах чёрной субстанции по данным посмертного гистологического исследования;

автором исследования дополнены факторы риска дебюта моторных клинических симптомов БП с определением вклада значимых субъективных стрессовых ситуаций, состояний, сопровождающихся болевым синдромом и инфекционных заболеваний;

впервые установлено нарушение гематоэнцефалического барьера у пациентов с БП, которое имело прогностическое значение в отношении быстрого прогрессирования заболевания, что, совместно с выявленным различием сывороточного уровня антител к α -синуклеину и отсутствием такого различия в спинномозговой жидкости может указывать на дополнительные аспекты патогенеза эволюции БП;

было обосновано применение методики лечения БП в виде внутривенного введения аллогенных полипотентных МСК путём лабораторного подтверждения его эффективности на модели лабораторных животных и у пациентов с БП.

Таким образом, научные результаты, которые выносятся на защиту, обладают высокой научной новизной.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Выводы диссертационного исследования соискателя Бойко А.В. базируются на большом обзоре литературных данных, включающих 317 источника, из них: 33 на русском языке и 284 – иностранных, на основании которого сформулированы цель и задачи представленной работы.

Соискателем проведено наблюдение и анализ медицинских данных – 241 пациента с БП и контрольной группы, на базе учреждения здравоохранения «5-я городская клиническая больница г. Минска» в период 2015-2023 гг. Исследования с использованием лабораторных животных выполнены на 168 белых крысах-самцах линии Vistar.

Полученные результаты клинического обследования, анамнестические, анкетные, лабораторные и функциональные данные пациентов были занесены в электронную базу и обработаны с применением современных статистических методов.

Результаты исследования соискателя Бойко А.В. являются составной частью трёх заданий Государственных научно-технических программ, Гранта Президента Республики Беларусь в области здравоохранения (2019 г.).

Полученные результаты подтверждены 2 инструкциями по применению, утверждёнными Министерством здравоохранения Республики Беларусь, 1 патентом на изобретение, внедрены в клиническую практику и образовательный процесс.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

Соискателем внесён значительный вклад в решение актуальной научной проблемы по улучшению понимания патогенеза БП с выявлением дополнительных аспектов патогенеза заболевания в виде влияния процессов асептического воспаления на формирование различного спектра симптомов и скорости прогрессирования БП.

Для достижения поставленной цели автором сформулированы и решены задачи, состоящие в определении комплекса клинико-патофизиологических реакций у лабораторных животных с экспериментально сформированным синдромом паркинсонизма, подтверждённым посмертным морфологическим исследованием; оценке влияния внутривенного введения аллогенных мультипотентных МСК на клинические проявления и лабораторный статус лабораторных животных с экспериментальным синдромом паркинсонизма; клинической характеристике группы пациентов с БП с оценкой особенностей дебюта БП и факторов, оказывающих влияние на преимущественно моторные проявления БП; определении лабораторных маркеров прогрессирования БП и изучении воздействия однократной внутривенной инфузии МСК у пациентов с БП.

Практическая значимость диссертационного исследования соискателя Бойко А.В. состоит в разработке и обосновании дополнительных способов формирования экспериментального паркинсонизма у лабораторных животных с использованием липополисахарида и дополнении таким образом аспектов патогенеза ранних стадий БП; определении взаимосвязи факторов риска БП и форм ее проявления; определении биомаркеров быстрого прогрессирования БП; обосновании применения внутривенной инфузии МСК у пациентов с БП.

Результаты диссертационной работы использованы в:

инструкциях по применению, утверждённые Министерством здравоохранения Республики Беларусь:

Метод определения вероятности быстрого прогрессирования болезни Паркинсона : инструкция по применению № 162-1220 : утв. Министерством здравоохранения Республики Беларусь 05.11.2021;

Метод клеточной терапии болезни Паркинсона : инструкция по применению № 159-1219 : утв. Министерством здравоохранения Республики Беларусь 21.12.2019,

патенте на изобретение: Способ диагностики стадии болезни Паркинсона : пат. ВУ 22974 (30.06.2020),

изложены в учебном пособии

Болезнь Паркинсона: этиопатогенез, диагностика и лечение, 2023. – 157 с.,

Получено 12 актов о внедрении результатов исследования в клиническую практику.

Социальная значимость представленной работы состоит в улучшении понимания аспектов патогенеза БП, что позволит в будущем разработать более эффективные методы патогенетического лечения.

Экономическая значимость состоит в возможном использовании МСК для лечения пациентов с быстро прогрессирующим типом течения с БП, что позволит снизить степень выраженности клинических симптомов и удлинит время достижения недееспособности.

Опубликованность результатов диссертации

Опубликованность результатов диссертации соответствует требованиям ВАК Республики Беларусь: 36 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий (общим объемом публикаций 22,59 авторского листа); 15 материалов конференций и тезисов докладов (общим объемом публикаций 1,88 авторского листа), зарегистрирована 1 база данных, получен 1 патент на изобретение (Республика Беларусь), Министерством здравоохранения Республики Беларусь утверждены 2 инструкции по применению, издано 1 учебное пособие.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертационная работа оформлена с учётом требований, предъявляемых к оформлению работ научного характера согласно Положению о присуждении учёных степеней и присвоения учёных званий в Республике Беларусь, утверждённого Указом Президента Республики Беларусь № 560 от 17.11.2004 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь № 190 от 02.06.2022), Инструкции о порядке оформления квалификационной научной работы (диссертации) на соискание учёных степеней кандидата и доктора наук, автореферата и публикаций по теме диссертации от 28.02.2014 (в редакции Постановления Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 22 августа 2022 г. № 5).

Диссертация изложена на русском языке, на 184 страницах печатного текста, состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материалов и методов, 3 глав с результатами собственных исследований, главы 6, посвящённой обсуждению полученных результатов и дальнейших перспектив, библиографического списка (317 ссылки), перечня собственных работ автора (60 публикаций, из них 2 инструкции по применению, 1 патент), приложений.

Соответствие научной квалификации соискателя учёной степени, на которую он претендует

Бойко Александр Васильевич провёл исследовательскую работу, требующую высокого уровня научной подготовки.

Соискателем избрано актуальное научное направление исследования, подобраны адекватные клинические, лабораторные и статистические методы, обработан достаточный экспериментальный и клинический материал, полученные новые научные результаты. Выводы логичны и достоверны, обладают научной новизной и практической значимостью.

На основании ознакомления с представленной диссертационной работой и авторефератом, в том числе актуальности направления исследования, достоверности выводов, научной и практической значимости, а также личного вклада соискателя и подбора адекватных клинических и статистических методов, можно утверждать, что соискатель Бойко А.В. соответствует квалификационным требованиям, предъявляемым к соискателю учёной степени доктора медицинских наук по специальностям: 14.01.11 – нервные болезни, отрасли медицинские науки.

Замечания

В тексте имеются опечатки, неудачные формулировки, стилистические и орфографические погрешности. Имею место неудачные выражения.

В тексте диссертации автором не приводятся последовательная расшифровка обозначений и сокращений при первом их упоминании.

Требует уточнения утверждение «снижением иммунных функций («иммунное старение»)», в то время как в литературных источниках указана активация отдельных звеньев иммунной системы при реализации патогенеза БП.

В тексте диссертационного исследования имею место упоминания неофициальных названий лекарственных препаратов.

Требуют пояснений автора формулировка «лабораторные исследования проводили с целью дифференцированной диагностики экстрапирамидного синдрома».

В главе «Материалы и методы» дизайн исследования указан неполно: не указаны сроки проведения исследования. Не указано общее количество лабораторных животных и пациентов, составивших основную и контрольную группы.

В главе 3, на с 81, 4 абзац и 82, 1 абзац, с. 102, 2 абзац, с. 104 последний абзац приводятся указания на данные международных исследований без ссылки на литературный источник.

В таблице 3.7 на стр. 83 не указана значимость различий.

В выводах 1-3 к главе 3 не приведены единицы измерения, которым доказывается степень поражения подкорковых ядер.

На с. 96, 1 абзац указывается, что результаты исследования подтверждают данные литературы, но не приводится ссылка. Аналогично на с. 102. Далее автор делает вывод о наличии иммунной дисфункции. При этом более высокий уровень антител к α -синуклеину свидетельствует о наличии иммунного ответа.

В таблице 4.5. на с. 103 указана статистическая значимость различий между группами, но нет пояснения какие группы отличаются между собой по изучаемым параметрам.

В выводе 1 к главе 5 указан одинаковый процент отсутствия эффекта от однократного внутривенного введения в основной группе и группе сравнения. Сумма процентов в основной группе превышает 100%.

Указанная в выводе 2 динамика уровня ИЛ-1 β с уровня 1,94 [1,73; 2,23] пг/мл на день 0 до уровня 1,87 [1,55; 2,02] пг/мл ($p = 0,06$), имеет только тенденцию к отличию.

В пятом выводе заключения имеются повторения.

В седьмом выводе заключения, вероятно целесообразно было бы использовать выражение «более низкие» значения вместо «низкие».

Термин «нейровоспалительная пенумбра» требует пояснения.

Какова по мнению автора целесообразность приведения клинических примеров.

Указанные замечания не снижают достоинств работы и не влияют на основное содержание и основные научные выводы диссертации.

Заключение

Диссертационное исследование Бойко Александра Васильевича «Диагностика и лечение прогрессирования болезни Паркинсона (клинико-экспериментальное исследование)» соответствует отрасли – медицинские науки и специальности 14.01.11 – нервные болезни.

Диссертационная работа полностью соответствует требованиям п.п. 20, 21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17 ноября 2004 г. № 560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь № 190 от 02.06.2022), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности т.к. посвящена концептуальному развитию одного из актуальных научных направлений и содержат принципиально новые научные результаты, совокупность которых является крупным достижением в соответствующей отрасли науки (нервные болезни), использование которых обеспечивает решение важной прикладной задачи, а ее автор заслуживает присуждения ему искомой степени за:

разработку клинико-лабораторной экспериментальной модели синдрома паркинсонизма с применением воспалительного агента, дополняющую представления о ранних доклинических стадиях болезни Паркинсона;

экспериментальное клинико-лабораторное обоснование использования внутривенного введения аллогенных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток для разработки способа клеточной терапии болезни Паркинсона;

выявление дополнительных средовых факторов риска в антиципации моторных симптомов болезни Паркинсона;

установление биологических маркеров диагностики быстрого типа прогрессирования болезни Паркинсона, включающего комплексную оценку клинических и лабораторных показателей у пациентов с неопределенным типом прогрессирования болезни Паркинсона;

определение возможности и безопасности использования внутривенного введения аллогенных мультипотентных мезенхиальных стволовых клеток у пациентов с быстро прогрессирующим типом течения болезни Паркинсона.

На основании приказа № 27-ас учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет» от 05.11.2024. отзыв рассмотрен на заседании научного собрания с участием сотрудников кафедр анатомии человека с курсом оперативной хирургии и топографической анатомии; внутренних болезней № 1 с курсами эндокринологии и гематологии; внутренних болезней № 2 с курсом ФПКиП; онкологии; хирургических болезней № 1 с курсом ССХ; хирургических болезней № 2; хирургических болезней № 3; общественного здоровья и здравоохранения с курсом ФПКиП; внутренних болезней № 3 с курсом функциональной диагностики; травматологии, ортопедии и ВПХ; пропедевтики внутренних болезней; поликлинической терапии и ОВП; военной; оториноларингологии с курсами офтальмологии и стоматологии; общей и клинической фармакологии; патологической анатомии; нормальной и патологической физиологии; гистологии, цитологии и эмбриологии; лучевой диагностики, лучевой терапии с курсом ФПКиП; неврологии и нейрохирургии с курсами медицинской реабилитации, психиатрии, ФПКиП; клинической лабораторной диагностики, аллергологии и иммунологии (протокол № 19 от 18.11.2024 г.), на котором был заслушан доклад соискателя Бойко А.В., заключение эксперта и проведено обсуждение диссертации.

На научном собрании присутствовали 21 человек, в том числе докторов медицинских наук – 3 человека, кандидатов медицинских наук – 12 человек.

Отзыв принят открытым голосованием членов научного собрания, имеющих ученые степени: «за» – 15, «против» - нет, «воздержались» - нет.

Председатель научного собрания,

заведующий кафедры неврологии и нейрохирургии с курсом медицинской реабилитации, психиатрии, факультета повышения квалификации и переподготовки учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет», кандидат медицинских наук, доцент



Н.Н.Усова

Эксперт

декан факультета повышения квалификации и переподготовки учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»,
доктор медицинских наук, профессор



Н.В. Галиновская

Секретарь научного собрания

доцент кафедры неврологии и нейрохирургии с курсом медицинской реабилитации, психиатрии, факультета повышения квалификации и переподготовки учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет», кандидат медицинских наук



Е.В. Сереброва