

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Бойко Александра Васильевича

«Диагностика и лечение прогрессирования болезни Паркинсона (клинико-экспериментальное исследование)», представленную к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни

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)» на соискание учёной степени доктора медицинских наук полностью соответствует специальности 14.01.11 – нервные болезни и отрасли науки – медицинские науки. Диссертация представляет собой законченное клинико-экспериментальное фундаментальное исследование, содержащее сведения о патогенезе развития паркинсонического синдрома (ПС) у экспериментальных животных (крыс); особенностях дебюта моторных симптомов болезни Паркинсона (БП) и выявлении его провоцирующих факторов; клинической характеристики и ряда лабораторных показателей у пациентов с разными типами прогрессирования БП; установлении роли воспалительных реакций и иммунных нарушений в патогенезе БП; разработке и внедрении метода диагностики разных типов прогрессирования заболевания на ранних стадиях. Важнейшей частью диссертации является исследование влияния аллогенных мультипотентных мезенхимальных стволовых клеток (ММСК) костного мозга на моторные реакции и лабораторные показатели ПС у экспериментальных крыс, а также обоснование применения и клиническую апробацию использования ММСК у пациентов с БП.

Результаты исследования позволили решить важную проблему неврологии – улучшить диагностику и разработать новый метод лечения прогрессирования БП. Это подтверждается целью и задачами работы, полученными результатами, выносимыми на защиту положениями и соответствующими выводами.

Актуальность темы диссертации

Болезнь Паркинсона является одним из наиболее распространенных заболеваний нервной системы, причем с неуклонно растущей заболеваемостью в мире. Характеризуется до конца не выясненной этиологией, сложным патогенезом, длительностью формирования клинической картины, миксом моторных и немоторных проявлений.

До настоящего времени окончательный механизм гибели дофаминергических нейронов черной субстанции (ЧС) не установлен; не

выяснены роль системной воспалительной реакции в организме и конкретно нейровоспаления в механизмах нейродегенерации, а также взаимосвязь реакций нейровоспаления и нейродегенерации в дебюте и прогрессировании БП. Важное значение в лабораторной диагностике БП имеет определение биологических предикторов и маркеров для выявления групп пациентов высокого риска прогрессирования заболевания, оценки различных методов лечения БП, что по-прежнему не решено. Несмотря на существующие различные группы лекарственных препаратов, довольно многочисленные, применяемых для лечения БП, эффективность использования ММСК костного мозга не была доказана. Это потребовало от автора проведения не только доклинических экспериментальных исследований, но и клинического обоснования.

Учитывая вышеизложенное, считаю, что тема докторской диссертации Бойко А.В. является актуальной; работа позволяет решить ряд сложных задач, поставленных автором и относится к числу фундаментальных практико-ориентированных исследований.

Степень новизны результатов диссертации и научных положений, выносимых на защиту

Значительная часть полученных автором данных установлена впервые. Новизна научных результатов и положений, выносимых на защиту, подтверждается отсутствием аналогичных работ в научных центрах страны и зарубежных странах, а также использованием комплекса методик исследования, как клинических, так и лабораторных, адекватным поставленным цели и задачам работы.

При моделировании ПС у крыс впервые при назальном введении различных доз липополисахарида морфологически подтверждено наличие доклинической стадии ПС нейровоспалительного генеза с развитием дегенеративных изменений в базальных ядрах и ЧС без каких-либо моторных нарушений.

Получены новые данные при гистологическом исследовании базальных ядер и ЧС крыс с ПС нейровоспалительного или нейротоксического генеза, свидетельствующие об одинаковых нейродегенеративных изменениях нейронов, доказывающие универсальность механизмов воздействия разных патологических факторов на исследованные структуры центральной нервной системы (ЦНС).

Впервые при моделировании ПС нейротоксического генеза показан паракринный эффект однократной инфузии ММСК на основании оценки содержания дофамина и гомованилиновой кислоты наряду с клинической оценкой моторных симптомов.

Ретроспективное исследование анализа заболевания пациентов с БП впервые позволило выявить факторы, влияющие на антиципацию моторных симптомов заболевания и формирование быстрого типа ее прогрессирования.

Автором убедительно доказано участие воспалительных реакций в патогенезе БП, влияющих на формирование типа ее прогрессирования и выраженность немоторных симптомов. Впервые установлены маркеры ранней диагностики быстрого типа прогрессирования заболевания.

Получены новые данные, свидетельствующие о положительном эффекте однократной инфузии ММСК костного мозга пациентам с БП, вызывающей улучшение самочувствия через сутки, уменьшение нарушений моторной симптоматики и изменение уровня цитокинов через 7 суток после клеточной терапии.

На основании анализа комплекса морфологических, биохимических и клинических данных при экспериментальном моделировании ПС у крыс и у пациентов с БП с оценкой показателей регресса клинических симптомов и лабораторных нарушений под влиянием однократной инфузии ММСК костного мозга впервые предложен к применению термин «нейровоспалительная пенумбра» для выделения возможной мишени для терапии, изменяющей течение БП.

Таким образом, научные положения, выносимые на защиту, и пункты заключения докторской диссертации А.В. Бойко характеризуются достаточно высокой степенью новизны.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертационное исследование выполнено на экспериментальных животных (крысах) путем создания ПС нейровоспалительного и нейротоксического генеза. Всего использовано 108 крыс линии Wistar массой 320-350 г, разделенных на основные и контрольные группы.

Клинический этап работы выполнен с включением в исследование 207 пациентов с БП, разделенных на основные и группы сравнения.

В работе применялись клинический лабораторный, гистологический и статистический методы исследования. Проведен глубокий анализ и грамотная статистическая обработка всех полученных экспериментальных и клинических результатов, полученных в ходе выполнения диссертации с использованием современных и адекватных поставленным цели и задачам методов медицинской статистики с использованием программного пакета MedCalc Version 22.006; MedCalc Software ltd и Statistica 6.0.

Выводы диссертации логически вытекают из полученных результатов проведенных исследований, научно обоснованы и содержат решение задач данной диссертационной работы.

Вышеизложенное обуславливает достоверность представленных результатов, научных положений, выносимых на защиту, и подтверждает обоснованность полученных выводов.

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

Выполненная докторская диссертация А.В. Бойко в научно-теоретических аспектах вносит существенный вклад в решение актуальной научной проблемы, а именно: научное обоснование, разработку и внедрение в практическое здравоохранение комплекса методов диагностики и лечения прогрессирующего БП путем однократного внутривенного введения аутологичных ММСК костного мозга в условиях экспериментального моделирования и клинического исследования, что имеет большое значение для развития современных представлений о синуклеинопатиях.

Исследования, выполненные автором, позволили получить морфологическое доказательство премоторной стадии ПС нейровоспалительного генеза у крыс; установить однотипность динамики лабораторных показателей обмена дофамина в сыворотке крови и спинномозговой жидкости при моделировании у экспериментальных животных ПС нейровоспалительной и нейротоксической этиологии; выявить позитивное влияние однократного внутривенного введения аутологичных ММСК костного мозга по оценке клинической картины и лабораторных показателей, свидетельствующее о паракринном эффекте предлагаемого метода клеточной терапии; установить роль воспалительных иммунных реакций в патогенезе БП с различным типом прогрессирующей последней; изучить приобретенные факторы дебюта моторных симптомов наряду с детальной характеристикой клинико-лабораторных показателей пациентов с разным типом прогрессирующего БП.

Подтверждением научной значимости и новизны результатов исследования служит полученный автором патент РБ «Способ диагностики стадии болезни Паркинсона» (ВУ 22974/ В.В. Пономарев, А.В. Бойко. – Оpubл. 30.06.2020 г.).

Результаты диссертационной работы имеют не только научную, но обладают существенной практической значимостью.

Автором разработаны и внедрены в практическое здравоохранение новые методы клеточной терапии и определения типа прогрессирующего БП. Об этом свидетельствуют инструкции по применению А.В. Бойко с соавт. «Метод клеточной терапии болезни Паркинсона». № 159 – 1219 от 26.12.2019 г. и «Метод определения вероятности быстрого прогрессирующего болезни Паркинсона» № 162-1220 от 05.11.2021 г. В учебном пособии «Болезнь Паркинсона: этиопатогенез, диагностика и лечение» аккумулированы основные теоретические и практические аспекты развития нейродегенеративных нарушений в ЦНС при БП, а также методы диагностики и лечения последней. Учебное пособие допущено Министерством образования РБ для слушателей системы дополнительного

образования взрослых в области здравоохранения.

Результаты диссертации внедрены в практическую деятельность учреждений здравоохранения Республики Беларусь (УЗ 5-1 ГКБ г. Минска, УЗ «Минская центральная районная клиническая больница») и в учебный процесс на кафедре неврологии и нейрохирургии ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», кафедре неврологии и нейрохирургии курсами медицинской реабилитации, психиатрии и ФПКиП УЗ «Гомельский государственный медицинский университет», кафедре неврологии и нейрохирургии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (10 актов внедрения).

Медико-социальная значимость исследования заключается в улучшении эффективности комплексной диагностики и лечения БП, основанных на разработанных автором методах диагностики и персонализированного лечения прогрессирования заболевания с использованием клеточной терапии ММСК костного мозга.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По теме диссертации опубликовано: 36 статей в рецензируемых научных журналах, соответствующих п. 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в РБ (в журналах СНГ – 6, дальнего зарубежья – 3 публикации) общим объемом 1,88 авторских листа; 7 – материалов конференций; 8 – тезисов докладов. Получен 1 патент, утверждены 2 инструкции по применению, утвержденные Минздравом РБ.

Научные результаты диссертации в полном объеме изложены в опубликованных работах и соответствуют поставленной цели и задачам диссертационного исследования.

Результаты диссертации А.В. Бойко доложены и обсуждены на многочисленных республиканских и международных научных съездах, конференциях, симпозиумах и семинарах.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Оформление диссертации и рукописи представленного автореферата соответствуют требованиям ВАК Республики Беларусь, изложенным в «Инструкции о порядке оформления диссертации, диссертации в виде научного доклада, автореферата диссертации и публикаций по теме диссертации», утвержденной Постановлением ВАК Республики Беларусь 28.02.2014 № 3 (в редакции постановления ВАК Республики Беларусь 22.08.2022 № 5).

Диссертация построена традиционно и состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, главы с описанием материала и методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований, главы с обсуждением полученных результатов,

заклучения, списка использованных источников и списка публикаций автора, приложений.

Библиографический список включает 317 использованных источников, из них 33 на русском языке и 284 – на иностранных языках (занимает 25 страниц) и 60 работ соискателя (8 страниц). Общий объем диссертации – 272 страницы, из них основной текст диссертации – 184 страницы компьютерного текста, приложения от А до Ю (55 страниц). Диссертация содержит 42 таблицы и 22 рисунка. При использовании собственных результатов, полученных в соавторстве, перечислен весь авторский коллектив.

В главе «Обзор литературы» обозначена проблема, из которой вытекают цель и задачи работы. Представлен современный взгляд на этиопатогенез БП, клинико-лабораторные показатели прогрессирования заболевания, терапию БП. Обзор литературы завершён выводами аналитического характера с выделением ряда нерешенных вопросов по этой проблеме.

В главе 6 дается широкое обсуждение собственных результатов и намечены дальнейшие перспективы повышения эффективности диагностики и терапии прогрессирования БП.

Каждый раздел результатов собственных исследований автор заключает конкретными выводами, дающими представление о наиболее весомых результатах исследования и позволяющими оценить логическое построение дизайна. Заключение в данной работе полностью отражает результаты исследования. Все положения заключения в 8 выводах содержат решение поставленной цели и задач диссертации. Рекомендации по практическому применению состоят из 8 пунктов и полностью отражают практическую значимость работы. Рисунки и таблицы продуманы и хорошо иллюстрируют текст работы.

По работе имеется несколько частных замечаний.

1. В обзоре литературы в п/р 1.5 (стр. 40) автор пишет, что «современная фармакотерапия заболевания пока основана только на применении методов патогенетического и симптоматического лечения» и далее – «препараты, влияющие на обмен дофамина, условно относят к симптоматическим средствам». Нет ли здесь противоречия, ведь синтез дофамина повышается при использовании препаратов Л – ДОФА, мадопар и др., т.к. леводопа, являясь предшественником дофамина, проникая через ГЭБ в ЦНС превращается в дофамин при участии декарбоксилазы ароматических кислот, представляя образец патогенетической заместительной терапии.

2. В описании модели нейротоксического ПС у крыс приведены данные о введении ротенона подкожно в ростральные участки межлопаточной области в дозе 2,0 мг/кг по прерывистой схеме 4 р в нед на протяжении 3 недель, кратностью – 13 введений. После 9 инъекций ротенона получали морфологические подтверждения развития нейродегенеративных

изменений в головном мозге крыс, а клеточная терапия заключалась в однократном использовании ММСК после 9-кратного введения ротенона; клиническую оценку моторных нарушений (птоз, регидность, постуральная нестабильность) оценивали на 7-е и 21-е сутки после введения ММСК. В этой связи не совсем ясен дизайн исследования, потребовавший 13 введений ротенона.

3. На стр. 59 (гл. 2, п/р 2.2.1) описание шкалы MMSE не совпадает с прил. В, где приведена краткая шкала оценки психического статуса.

4. На стр. 111 и 112 перепутаны рис. 4.4 и 4.5; на стр. 136-137 – рис. 4.10 и 4.11.

5. Желательно указать, какая корреляционная зависимость – положительная или отрицательная (стр. 96) и с каким типом прогрессирования БП установлена (стр. 122).

6. Имеются орфографические, синтаксические ошибки, опечатки, неточности (стр. 33, 48, 55, 88, 89, 150, 160).

7. Выявлены неудачные выражения, стилистические погрешности: «касательно распространенности» (стр. 46), «с помощью вытягивания конвертов» (стр. 65), «животные модели» (стр. 85), «приемлемые маркеры» (стр. 138), приемлемая клиническая эффективность» (стр. (140).

8. Неудачно озаглавлен п/р 2.1.5 гл. 2 «Дизайн доклинического этапа эксперимента». Экспериментальные исследования были выполнены только на крысах. Клинический раздел диссертации вряд ли можно назвать экспериментом.

9. Пункты 1 – 3 выводов по главе 3 можно было бы объединить в один вывод без излишней детализации.

10. Не ясно, на основании чего при прогнозировании вероятности наличия быстрого типа прогрессирования БП у пациентов с односторонней моторной симптоматикой при длительности течения БП до 5 лет автор указывает общую чувствительность и специфичность с AUC 0,84 для трех показателей: Qalb, уровня антител к α -синуклеину и баллов по Монреальской шкале оценки когнитивных функций МОСА? Очень хорошее качество представленной диагностической модели было достигнуто вследствие выполнения многофакторного анализа на основе бинарной логистической регрессии или иначе? (вывод № 6 заключения).

Однако высказанные замечания не принципиальны и не снижают достоинства работы.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, основным ее результатам и положениям, выносимым на защиту.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени доктора медицинских наук

Анализ материалов по диссертации А.В. Бойко, в частности, цели и задач исследования, положений, выносимых на защиту, а также наличие

научной новизны, теоретической и практической значимости, логичной интерпретации полученных результатов, разработанных новых методов диагностики и лечения, внедрение результатов в практическое здравоохранение, позволяет сделать вывод о соответствии научной квалификации Бойко Александра Васильевича ученой степени доктора медицинских наук.

Заключение

Диссертационная работа А.В. Бойко «Диагностика и лечение прогрессирования болезни Паркинсона (клинико-экспериментальное исследование)», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни, является законченным научным исследованием, по своей актуальности, новизне и научно-практической значимости соответствует п. п. 19, 20 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий» в Республике Беларусь, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17.11.2004 № 560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь от 02.06.2022 № 190), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни за следующие новые научно-обоснованные результаты:

1. Впервые установленное при моделировании ПС нейровоспалительного генеза у крыс при интраназальном введении различных доз липополисахарида (1, 10, 100 мкг/кг/мл) однократных нейродегенеративных изменений в базальных ядрах и черной субстанции, предшествующих развитию моторных нарушений – премоторной стадии ПС.

2. Установление универсальности механизмов реализации нейровоспалительного и нейротоксических факторов на ЦНС крыс с моделированием ПС различного генеза, проявившееся однотипными дегенеративными нарушениями нейронов базальных ядер и черной субстанции. Также выявление прогрессирующего уменьшения уровней дофамина ($p < 0,05$) и гомованилиновой кислоты ($p < 0,05$) в сыворотке крови и дофамина в спинномозговой жидкости ($p < 0,05$), проявляющееся моторными нарушениями у крыс с введением ротенона, что в совокупности подтверждает существование нейромедиаторного дефицита, лежащего в основе клинических проявлений БП,

3. Доказательство положительного патогенетического влияния однократного внутривенного введения ММСК костного мозга при моделировании ПС у крыс различного генеза по оценке регресса моторных нарушений и нормализации обмена дофамина в сыворотке крови на 7-е и 21-е сутки от начала эксперимента.

4. Доказательство влияния воспалительных и иммунных реакций на патогенез БП, что обуславливает формирование типа ее прогрессирования и выраженность немоторных симптомов.

5. Установление у ряда пациентов провоцирующих факторов, лежащих в дебюте развития моторных симптомов БП и доказательство единства патогенетической структуры моторных проявлений БП. Также развитие представлений о синергизме действия факторов окружающей среды и уже существующего субклинического премоторного нейромедиаторного дефицита в виде несемейной антиципации двигательных проявлений БП.

6. Разработку и внедрение в практическое здравоохранение метода диагностики быстрого типа прогрессирования БП на ранних стадиях заболевания при проспективном наблюдении за лицами с неопределенным типом прогрессирования БП основанное на установлении пороговых уровней величин альбуминового коэффициента менее 83,95; уровня антител к α -синуклеину в сыворотке крови более 4,11 мг/мл и оценки когнитивных функций по шкале MoCA менее 26 баллов, являющихся предикторами риска развития быстрого типа прогрессирования БП.

7. Разработку и внедрение в практическое здравоохранение метода лечения пациентов с БП аутологичными ММСК, что вызывает улучшение самочувствия пациентов с БП через сутки, изменяет уровни лабораторных иммунных показателей и выраженность моторной симптоматики на 7-е сутки после введения ММСК по сравнению с лицами группы сравнения ($p < 0,05$), подтверждающее ранний паракринный эффект клеточной терапии на патогенетические звенья формирования клинических симптомов при БП.


8. Предложение применения в научных и практических целях термина «нейровоспалительная пестумбра», основанное на результатах комплексного экспериментально-клинического исследования и направленное для четкого выделения мишени при проведении терапии, изменяющей течение БП.

Полученные новые научно обоснованные данные в совокупности вносят существенный вклад в решение важной научной проблемы, способствуя улучшению оказания помощи пациентам, страдающим БП, что имеет большое практическое значение.

Официальный оппонент:

Заведующий лабораторией клинической патофизиологии нервной системы
РНПЦ неврологии и нейрохирургии,
доктор медицинских наук, профессор,
заслуженный деятель науки
Республики Беларусь

20 ноября 2024 г.


Н.И. Нечипуренко

Лаборатория патологической физиологии
и клинической неврологии
РНПЦ неврологии и нейрохирургии
20.11.2024