

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе

ГУ ЛНР «ЛГМУ

ИМ. СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ»

доктор медицинских наук, профессор

 Ю.Г. Пустовой

» декабря 2022 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Филимонова Дмитрия Алексеевича на тему «Влияние тиреоидного гомеостаза на течение и исход острой цереброваскулярной патологии: клинико-экспериментальное исследование и анализ генетических корреляций», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни

Актуальность темы диссертационного исследования

Острые нарушения мозгового кровообращения являются одним из наиболее социально значимых заболеваний в мире. По данным Всемирной Организации по борьбе с инсультом экономические потери, связанные с инсультом, составляют 0,36% от мирового ВВП. Несмотря на предпринимаемые меры сохраняется ряд негативных тенденций в эпидемиологии инсульта. Так, в 2019 г. 63% всех случаев инсульта произошли у пациентов моложе 70 лет, в 80% случаев инсульт развился у лиц с низким или умеренным кардиоваскулярным риском (Owolabi et al., 2021). В Российской Федерации достигнуты существенные успехи в борьбе с цереброваскулярными заболеваниями в течение последних 10 лет, однако, инсульт по-прежнему остается ведущей причиной инвалидизации и второй по значимости причиной смерти (В.И. Скворцова, 2020).

Разработанные современные методы реперфузионной терапии, такие как эндоваскулярная экстракция тромба с помощью устройства-ретривера и селективный тромболизис в течение первых 6 часов после развития ишемического инсульта оказались крайне эффективными в клинических исследованиях, однако, в реальной практике они выполнимы не более, чем у 10-15% пациентов. В связи с этим потребность в эффективных и широко доступных подходах к лечению, позволяющих улучшить исход инсульта по-прежнему высока. В качестве одного из таких подходов определенные надежды возлагаются на нейропротективную терапию.

В процессе ишемии головного мозга происходит сложный каскад биохимических событий, который в конечном итоге приводит к гибели нейронов. В рамках этого каскада многие молекулярные мишени могут быть фармакологически модулированы для достижения нейропротекторного эффекта. Некоторые из молекулярных механизмов, на которые могут быть направлены нейропротекторы, включают в себя: высвобождение глутамата, активацию глутаматных рецепторов, эксайтотоксичность, приток ионов Ca^{2+} в нейроны, митохондриальную дисфункцию, активацию внутриклеточных ферментов, высвобождение свободных радикалов, оксида азота, активацию процессов апоптоза и воспаления. В доклинических исследованиях было апробировано более 1600 потенциальных нейропротекторных методов лечения. К сожалению, после почти 600 клинических рандомизированных испытаний попытки нейропротекции при ишемическом инсульте не достигли желаемого успеха.

В течение последних лет акценты в исследовании потенциальных нейропротекторов все более смещаются в сторону различных эндогенных субстанций. Проведены клинические исследования ряда эндогенных субстанций и их аналогов, таких как мочевая кислота, альбумин, эритропоэтин, основной фактор роста фибробластов, каллидогеназа и др. Стремительно развивающимся направлением является использование плюрипотентных стволовых клеток при лечении инсульта, для увеличения выживаемости и реинтеграционной способности которых могут применяться эндогенные молекулы. Концепция

использования аналогов эндогенных субстанций в качестве нейропротекторов является относительно новой, однако, число исследований в данном направлении увеличивается ежегодно.

Известно, что тиреоидные гормоны имеют фундаментальное значение для развития мозга и являются существенными факторами для обеспечения его нормальной функции. Их действие опосредовано связыванием со специфическими внутриклеточными и мембранными рецепторами, регулирующими геномные и негеномные механизмы в нейронах и популяциях глиальных клеток. Среди прочих, механизмы включают регуляцию процессов пластичности нейронов, стимуляцию ангиогенеза и нейрогенеза, а также модуляцию динамики цитоскелетных элементов и процессов внутриклеточного транспорта. Эти механизмы совпадают с теми, которые активизируются для восстановления утраченных неврологических функций в первые недели и месяцы после инсульта. Вместе с тем, нейротропные эффекты тиреоидных гормонов при острой ишемии головного мозга мало изучены. Тщательный анализ литературных данных с акцентом на молекулярные механизмы действия тиреоидных гормонов позволил автору диссертационного исследования предложить инновационную концепцию – использование тиромиметиков (аналогов тиреоидных гормонов и их метаболитов) с целью улучшения исходов цереброваскулярных заболеваний. Для разработки данной концепции автором проведено комплексное клинико-экспериментальное и гено-аналитическое исследование, целью которого являлось определение влияния механизмов, формирующих тиреоидный гомеостаз, на течение цереброваскулярной патологии. С учетом широких перспектив практического применения предложенной концепции, актуальность диссертационной работы не вызывает сомнения.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов

В ходе диссертационного исследования представлено новое решение актуальной научной проблемы, находящейся на стыке клинической неврологии, нейробиохимии и нейрогенетики, и заключающейся в идентификации новых

метаболических факторов, влияющих на тяжесть течения и исход цереброваскулярных заболеваний, а также в поиске новых молекулярных мишеней для разработки методов терапии, направленных на улучшение исходов цереброваскулярной патологии. Впервые в отечественной и мировой литературе тщательно изучены клиничко-неврологические характеристики ишемического инсульта у пациентов с высоким уровнем свободного трийодтиронина с акцентом на его нейропротекторные эффекты. В многофакторной регрессионной модели убедительно продемонстрировано влияние высоких уровней трийодтиронина на вероятность благоприятного исхода инсульта. Следует отметить, что в ранее проведенных клинических исследованиях внимание уделялось в основном характеру функциональных исходов на фоне синдрома низкого уровня трийодтиронина. За обнаружение данной зависимости автор диссертационной работы в 2021 г. получил награду «Young Investigator Award» на XIII Всемирном инсультном конгрессе (World Stroke Congress).

Важным фактом является выявленная ассоциация между высоким уровнем тироксина и более выраженной тяжестью неврологического дефицита, что нашло свое отражение в практических рекомендациях. Следует отметить, что в литературе опубликовано крайне мало данных о влиянии уровня трийодтиронина и тироксина на тяжесть неврологического дефицита в остром периоде, и выявленные ассоциации являются научной новизной.

Тщательно изученные в диссертационном исследовании взаимоотношения между биомаркерами тиреоидного статуса и клиничко-неврологическими характеристиками пациентов с острым ишемическим инсультом позволили автору с применением современных статистических аналитических технологий (таких, как машинное обучение) разработать алгоритм раннего прогнозирования неблагоприятного функционального исхода ишемического инсульта. Предложенный алгоритм обладает точностью 92,6% и включает в себя лишь два лабораторных маркера – уровни свободного трийодтиронина и свободного тироксина, а также такие клинические данные, как возраст пациента и сумму баллов по Скандинавской шкале тяжести инсульта. Таким образом, алгоритм

может быть легко применен в клинической практике, что нашло свое отражение в успешном внедрении его в пяти неврологических отделениях г. Донецка.

Особый интерес вызывает экспериментальный этап исследования, посвященный изучению нейропротекторных эффектов синтетических аналогов дейодированных метаболитов тиреоидных гормонов – тиронаминов в экспериментальной модели инсульта. По данному направлению диссертационная работа является уникальной для отечественной неврологии. Исследуемый препарат был синтезирован при личном участии автора диссертации в Институте физико-органической химии и углеродной химии им. Л.М. Литвиненко (г. Донецк). В ходе синтеза препарата использованы современные методы, такие как ЯМР-спектроскопия и оптимизация молекулярной геометрии. Впервые показано, что дейодированный метаболит тиреоидных гормонов тиронамин ТДАМ препятствует снижению уровня супероксиддисмутазы (SOD) и повышению продуктов перекисного окисления липидов в ишемизированной ткани головного мозга. Инъекции синтетического аналога тиронамина лабораторным животным в экспериментальной модели ишемического инсульта приводят к более выраженному регрессу двигательного дефицита, а также к улучшению показателей рабочей памяти. Полученные данные убедительно доказывают наличие нейропротекторных эффектов у тиреоидных гормонов, а также перспективность воздействия на TAAR-рецепторы в качестве новой молекулярной мишени для фармакологической интервенции при ишемическом инсульте.

Иновационным в отечественной неврологии является этап диссертации, посвященный аналитическому исследованию в области генома человека, представляющий мульти-омиксный анализ, интегрирующий методы менделевской рандомизации, функционального аннотирования генов, поиск контролируемых тиреоидными гормонами сигнальных путей и изучение влияния экспрессии генов на цереброваскулярные фенотипы. Применив данный метод, автор убедительно продемонстрировал благоприятное влияние уровня трийодтиронина на вероятность хорошего функционального восстановления

после перенесенного ишемического инсульта. В исследовании были использованы данные из различных когорт, суммарно включающих более 10000 пациентов. Доказано, что генетически прогнозируемое повышение уровня свободного трийодтиронина на 1 пмоль/л ассоциировано со снижением риска неблагоприятного исхода инсульта (3-6 баллов по модифицированной шкале Рэнкина) на 18%. Таким образом, автором представлены клинические, экспериментальные и генно-аналитические доказательства нейропротекторных эффектов трийодтиронина.

Кроме доказательств влияния трийодтиронина на исход инсульта автором идентифицированы вероятные механизмы реализации данного влияния. Помимо установленной в ходе экспериментального исследования роли TAAR-сигналирования, анализ генетических корреляций демонстрирует, что одним из механизмов влияния гипотиреоза на функциональный исход инсульта выступает активация проапоптогенных сигнальных путей, а именно, повышение уровней индуцирующего апоптоз митохондриального фактора-1 и апоптогенных белков семейства BCL-2. Проведенный анализ, интегрирующий данные генома (cis-eQTL) и транскриптома, убедительно демонстрирует, что в условиях острой ишемии головного мозга тиреоидные гормоны обладают способностью активировать гены и сигнальные пути, способствующие выживанию нейронов, такие как ANP1, UNC-5 и EphB. За высокие научные качества доклады диссертанта, посвященные аналитическому исследованию в области генома и транскриптома, были признаны лучшими на XVI Всемирном конгрессе по контраверсиям в неврологии (CONY, Великобритания, 2022) и удостоены награды «Young Investigator Award» на XIV Всемирном инсультном конгрессе (14th World Stroke Congress, Сингапур, 2022).

Результаты диссертационного исследования позволяют использовать персонифицированный подход в коррекции тиреоидных нарушений при ишемическом инсульте, а также существенно расширяют знания о молекулярно-генетических механизмах влияния тиреоидной системы на функциональный исход цереброваскулярных заболеваний.

Связь с планом научно-исследовательских работ, в рамках которых выполнена диссертация

Диссертация Филимонова Д.А. является фрагментом НИР Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака (г. Донецк) по темам: «Изучение возможностей модификации тиреоидного гомеостаза как нового перспективного метода нейропротекции при ишемическом инсульте» (2016-2020), «Разработка молекулярно-прицельных методов нейропротекции при цереброваскулярных заболеваниях. Изучение биологических свойств перспективных структурно-модифицированных лигандов TAAR и AMPA-рецепторов» (2021-2024).

Личный вклад автора в проведенное исследование

Идея диссертационной работы и ее реализация, научная гипотеза исследования принадлежат автору. Автором подготовлен дизайн и комплексная программа диссертационного исследования. Самостоятельно выполнен аналитический обзор литературы. Автором лично выполнен сбор, каталогизация и анализ клинического материала, организованы инструментальные и лабораторные исследования. Автором исследования организована совместная исследовательская работа Института физико-органической химии и углехимии им. Л.М. Литвиненко и ИНВХ им. В.К. Гусака по синтезу аналога эндогенного тиронамина, включая формирование основной идеи и выбор характеристик разрабатываемой субстанции. Автором организовано экспериментальное исследование, проведены систематизация и анализ экспериментальных данных. Автору принадлежит идея и реализация использования менделевской рандомизации для анализа влияния уровня трийодтиронина на функциональный исход инсульта, а также для поиска молекулярных механизмов нейротропных эффектов тиреоидных гормонов. Автор самостоятельно провел статистическую обработку полученных данных и дал научную интерпретацию полученных результатов с формулировкой выводов и практических рекомендаций.

Достоверность и обоснованность основных положений, выводов и рекомендаций

Для доказательства нейропротекторного действия тиреоидных гормонов и идентификации молекулярных механизмов, лежащих в его основе, автором был использован комплексный подход, включающий клиническое и экспериментальное исследование, а также мульти-омиксное аналитическое исследование с использованием международных генетических баз данных.

Все использованные в ходе исследования методики опираются на современные представления отечественных и зарубежных авторов о патогенетических процессах, происходящих при острой ишемии головного мозга. При планировании дизайна исследования и выборе конечных точек автор опирался на рекомендации Европейской организации по борьбе с инсультом, а также на рекомендации консорциума STAIR по проведению фундаментальных исследований в области цереброваскулярной патологии.

Работа выполнена в соответствии с принципами доказательной медицины, использованы современные инструментальные и аналитические методы исследования. Особый интерес представляет собой экспериментальный этап, в ходе которого была синтезирована новая субстанция – лиганд рецепторов к следовым аминам (модифицированный аналог тиронамина T0AM). В работе применялись как общепринятые, так и новые современные методы медицинской статистики. Основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации научно обоснованы и аргументированы, логично вытекают из диссертационной работы.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Проведенное диссертационное исследование имеет безусловное значение как для клинической, так и для фундаментальной нейронауки. Полученные данные расширяют представления о специфике течения острого ишемического инсульта в зависимости от тиреоидного профиля в момент его развития.

Результаты многофакторного статистического анализа позволяют выделить трийодтиронин, как наиболее приоритетный фактор тиреоидной системы, влияющий на тяжесть и функциональный исход ишемического инсульта. Установлено, что с каждым увеличением уровня свободного трийодтиронина на 1 пмоль/л сумма баллов по Скандинавской шкале увеличивается на 3 балла (95% ДИ 0.15 - 5.91). Кроме того, увеличение уровня свободного трийодтиронина на 1 пмоль/л ассоциировано с повышением шансов наступления более легкого функционального исхода ишемического инсульта через 6 месяцев (на 1 балл меньше по модифицированной шкале Рэнкина при прочих равных условиях) на 67%. Полученные результаты дают основание инициировать апробационные клинические исследования эффективности назначения синтетических аналогов трийодтиронина для улучшения исходов ишемического инсульта.

В ходе экспериментального этапа исследования подробно описаны нейропротекторные эффекты синтетического аналога метаболитов тиреоидных гормонов – тиронамина Т0АМ. Установлено, что активация ТААР-рецепторов тиронаминами приводит к различным биологическим эффектам в разные стадии острой церебральной ишемии. Введение синтетического аналога тиронамина лабораторным животным в модели ишемического инсульта вызывает в первые сутки транзиторный седативный эффект, при этом на третьи и седьмые сутки у животных, получавших синтетический аналог тиронамина, отмечается менее выраженный неврологический дефицит. Также введение тиронамина в условиях острой церебральной ишемии приводит к нормализации поведенческих показателей, отвечающих за уровень тревожности у лабораторных животных, улучшению показателей рабочей памяти и обучаемости по сравнению с контрольными животными, что отражает влияние процессов, активируемых ТААР-рецепторами, на механизмы постишемического восстановления. В сочетании с установленным гипотермическим эффектом, синтетические аналоги тиронамина представляются потенциально эффективными церебральными цитопротекторами не только при острой очаговой ишемии, но и при других критических состояниях, затрагивающих головной мозг.

Проведенное автором аналитическое исследование в области генома человека с применением мульти-омиксных подходов существенно расширяет сведения о молекулярных механизмах нейропротекторных эффектов тиреоидных гормонов, а также позволяет идентифицировать новые молекулярные мишени для их модуляции с целью улучшения исходов сосудистых заболеваний головного мозга.

Реализация и апробация результатов исследования

Основные положения диссертации доложены на 8 международных конференциях в странах дальнего зарубежья, в том числе на II Конгрессе Европейской организации по борьбе с инсультом (European Stroke Organization Congress, Испания, 2016), XIII Всемирном конгрессе по контраверсиям в неврологии (CONY, Греция, 2017), XXIII Всемирном неврологическом конгрессе (World Neurology Congress, Япония, 2017), III Национальном конгрессе «Кардионеврология» (Москва, РАМН, 2018), Первом совместном конгрессе Европейской и Всемирной Организаций по борьбе с инсультом (The Joint European Stroke Organisation and World Stroke Organization Conference ESO-WSO 2020, Австрия, 2020), XIII Всемирном инсультном конгрессе (13th World Stroke Congress, 2021), XVI Всемирном конгрессе по контраверсиям в неврологии (CONY, Великобритания, 2022), VIII Конгрессе Европейской организации по борьбе с инсультом (European Stroke Organization Congress, Франция, 2022), XXIII научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы клинической, экспериментальной неврологии, нейрохирургии, нейрофизиологии» (Казахстан, 2022), XIV Всемирном инсультном конгрессе (14th World Stroke Congress, Сингапур, 2022).

По теме диссертации опубликовано 33 печатные работы, из них в изданиях рекомендованных перечнем ВАК при Министерстве образования и науки Донецкой Народной Республики – 8 работ, ВАК Российской Федерации – 1, ВАК Украины – 2, а также 1 работа в рецензируемом издании в США.

Структура и содержание диссертации

Диссертация выполнена в классическом стиле, состоит из введения, аналитического обзора литературы, 5 глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка цитированной литературы. Библиографический указатель включает 445 литературных источников, из которых 36 написаны кириллицей. Работа проиллюстрирована 46 таблицами и 52 рисунками. Список литературы включает в основном англоязычные источники последних 2-5 лет.

Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования

Полученные данные являются основой для практического применения мультидисциплинарного подхода, предусматривающего взаимодействие невролога и эндокринолога для коррекции тиреоидных нарушений с целью улучшения функциональных исходов ишемического инсульта и профилактики цереброваскулярных заболеваний. Предложенные выводы и практические рекомендации целесообразно использовать в инсультных центрах, неврологических отделениях, в работе поликлинической неврологической службы.

Крайне перспективной представляется инициация клинических исследований эффективности назначения синтетических аналогов трийодтиронина (таких, как лиотиронин) с целью нейропротекции и улучшения функциональных исходов ишемического инсульта. Сведения о влиянии тиреоидных гормонов на процессы клеточного апоптоза могут быть использованы для повышения выживаемости клеточных культур, что фактически в настоящее время успешно внедрено на базе лаборатории клеточного и тканевого культивирования ИНВХ им. В.К. Гусака. Полученные в ходе исследования данные могут быть использованы при преподавании таких дисциплин, как

неврология, эндокринология, генетика.

Практическая значимость диссертационной работы подтверждается внедрением полученных результатов в ряде ведущих лечебных и научно-образовательных учреждений Донецкой Народной Республики. Результаты работы внедрены и используются в неврологическом отделении Городской клинической больницы №6 г. Донецке, неврологическом отделении Дорожной клинической больницы ст. Донецк, в неврологических отделениях центральной городской больницы №17 г. Донецка и городской больницы №7 г. Макеевки, лаборатории клеточного и тканевого культивирования ИНВХ им. В.К. Гусака. Теоретические и практические материалы исследования включены в учебный процесс кафедры детской и общей неврологии факультета интернатуры и последипломного образования ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО, кафедры неврологии и медицинской генетики ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет.

Заключение

Диссертация Филимонова Дмитрия Алексеевича «Влияние тиреоидного гомеостаза на течение и исход острой цереброваскулярной патологии: клинико-экспериментальное исследование и анализ генетических корреляций», представленная к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук, выполненная при консультативном участии д.мед.н., профессора, Заслуженного деятеля науки и техники Евтушенко Станислава Константиновича является завершенной научно-квалифицированной работой, посвященной решению актуальной проблемы неврологии, имеющей существенное научно-фундаментальное и практическое значение, а именно – поиску новых факторов, влияющих на тяжесть течения и исход цереброваскулярных заболеваний, внедрению новых методов прогнозирования исходов ишемического инсульта, а также идентификации новых молекулярных мишеней для разработки методов терапии, направленных на улучшение исходов цереброваскулярной патологии.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости, объему выполненных исследований диссертационная работа Филимонова Дмитрия Алексеевича соответствует всем требованиям, установленным п.2.1 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Совета Министров Донецкой Народной Республики от 27.02.2015 года, № 2-13, предъявляемых к диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук, а ее автор Филимонов Дмитрий Алексеевич заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.11 – нервные болезни.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры нервных болезней и нейрохирургии ГУ ЛНР «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки» Министерства здравоохранения Луганской Народной Республики, протокол № 4 от 26 декабря 2022 года.

Заведующая кафедрой нервных болезней
и нейрохирургии ГУ ЛНР «ЛГМУ
ИМ. СВЯТИТЕЛЯ ЛУКИ»
кандидат медицинских наук, доцент



О.А. Пустовая

Подпись О.А. Пустовой заверяю

Заместитель начальника
ОК  

Согласие доцента Пустовой О.А. на автоматизированную обработку персональных данных получено.

кв.50-летия Оборона Луганска, д. 1г, г. Луганск, Луганская Народная Республика,
Российская Федерация, 91045