

Отзыв официального оппонента

доктора медицинских наук, академика Российской академии наук, заслуженного врача РФ, профессора Скоромца Александра Анисимовича на диссертационную работу **Филимонова Дмитрия Алексеевича** «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 проблемы диссертационного исследования

В настоящее время инсульт рассматривается как одно из наиболее социально значимых заболеваний как в России, так и во всем мире. Согласно официальным данным, ежегодно в Российской Федерации развивается около полумиллиона новых случаев острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК), из них до 80% составляет ишемический инсульт (ИИ). Несмотря на явные достижения, связанные с успешным внедрением государственной программы по борьбе с сосудистыми заболеваниями, показатели смертности от инсульта в РФ продолжают оставаться высокими, составляя 374 на 100 тыс. населения, в остром его периоде летальность достигает 35%, а в течение года – 50%. Тяжелое бремя инсульта для систем здравоохранения практически во всех странах обусловлено, прежде всего, высокой инвалидизацией вследствие инсульта, которая и является одной из ведущих причин первичной стойкой утраты трудоспособности у 40% больных.

Доказанный способ снижения риска инвалидизирующего исхода ишемического инсульта являются тромболитическая и механическая тромбоэкстракция, что было подтверждено в многоцентровых клинических исследованиях, таких как IST-3, ECASS-III, EXTEND-IA. Вместе с тем, в реальной клинической практике только 5-10% пациентов получают реперфузионную терапию. Вместе с тем, медикаментозная нейропротекция является перспективным методом для уменьшения распространенности зоны инфаркта.

В процессе ишемии головного мозга происходит сложный каскад биохимических событий, который в конечном итоге приводит к гибели нейронов и нейроглии. В рамках этого каскада многие молекулярные мишени могут быть фармакологически модулированы для достижения нейропротекторного эффекта. В доклинических исследованиях было апробировано более 1000 потенциальных нейропротекторных методов лечения, и ряд из них продемонстрировал свою эффективность. К сожалению, после практически 200 клинических рандомизированных испытаний попытки нейропротекции при ишемическом инсульте не достигли желаемого клинического успеха.

В течение последних лет акценты в исследовании потенциальных нейропротекторов все более смещаются в сторону различных эндогенных субстанций, таких как гормоны, цитокины, различные сигнальные молекулы и факторы роста. В данном контексте тиреоидные гормоны имеют фундаментальное значение для развития мозга и являются существенными факторами для обеспечения его нормальной функции. Как известно, их действие опосредовано связыванием со специфическими внутриклеточными и мембранными рецепторами, регулирующими геномные и негеномные механизмы в нейронах и в популяциях глиальных клеток. Среди многих, данные 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 после ишемического инсульта. По данным ряда авторов, активация рецепторов и сигнальных путей, регулируемых тиреоидными гормонами в постишемической ткани мозга, может быть перспективной терапевтической стратегией для стимулирования эндогенных механизмов восстановления. Ряд исследований указывают на значительную связь между гормонами щитовидной железы и функциональным исходом после инсульта, однако, имеются и данные о положительном влиянии гипотиреоза на постинсультный дефицит. Известно, что тиреоидные гормоны обладают как нейропротекторными, так и нейротоксичными

свойствами. При этом механизмы воздействия тиреоидных гормонов на процессы, происходящие при церебральной ишемии, к сожалению, остаются не изученными.

Таким образом, диссертационная работа Филимонова Д.А., в которой подробно изучена роль компонентов, формирующих тиреоидный гомеостаз, как нового метаболического фактора, влияющего на тяжесть и исход острых нарушений мозгового кровообращения и обоснована перспективность воздействия на тиреоидную систему в качестве принципиально новой нейропротекторной стратегии, является крайне своевременной и актуальной.

Достоверность и обоснованность основных положений, выводов и практических рекомендаций

Для доказательства нейропротекторного действия тиреоидных гормонов и идентификации молекулярных механизмов, лежащих в его основе, диссертантом был использован комплексный подход, включающий клиническое и экспериментальное исследование, а также новый метод анализа влияния различных факторов на клинические особенности заболеваний – менделевскую рандомизацию.

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

Работа выполнена в соответствии с принципами доказательной медицины, использованы современные инструментальные и аналитические методы исследования. Размер выборки рассчитан с использованием статистических подходов и научно аргументирован. Основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации научно обоснованы и доказаны, логично вытекают из диссертационной работы.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов, выводов и рекомендаций

Полученные в ходе работы данные предоставляют ответы на ряд актуальных научных вопросов, находящихся на стыке клинической неврологии, фундаментальной нейронауки, нейроэндокринологии и нейрогенетики. Диссертационная работа имеет высокую научную ценность благодаря впервые проведенному комплексному изучению влияния не только «классических» тиреоидных гормонов, но и остальных компонентов тиреоидной системы на тяжесть и функциональные исходы ишемического инсульта. Прежде всего, из всех клинических лабораторных маркеров, отражающих тиреоидный статус, впервые в многофакторной регрессионной модели показано влияние изначально высокого уровня трийодтиронина (Т3) на вероятность благоприятного течения и неинвалидизирующего исхода инсульта. Применение актуальных статистических методов позволило автору исключить влияние вмешивающихся факторов (таких как возраст и исходная тяжесть инсульта) на выявленную статистическую ассоциацию высоких уровней Т3 с более благоприятными функциональными исходами ИИ. 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 получил награду «Young Investigator Award» на XIII Всемирном конгрессе, посвященном инсульту (World Stroke Congress, 2021).

Важным научным фактом является выявленная в диссертационном исследовании ассоциация между высоким уровнем тироксина и более выраженной тяжестью неврологического дефицита, что нашло свое отражение в практических рекомендациях. Разнонаправленным действием трийодтиронина и тироксина и объясняются противоречия в результатах ранее опубликованных исследований, изучавших влияние гипо- и гипертиреоза на функциональный исход инсульта. Следует отметить, что в литературе опубликовано недостаточно данных о влиянии

уровня трийодтиронина и тироксина на тяжесть неврологического дефицита в остром периоде, и выявленные ассоциации являются научной новизной.

Особый интерес вызывает экспериментальный этап исследования, посвященный изучению нейропротекторных эффектов метаболитов тиреоидных гормонов – тиронаминов в экспериментальной модели инсульта. По данному направлению диссертационная работа является уникальной для отечественной неврологии. Впервые показано, что дейодированный метаболит тиреоидных гормонов тиронамин T0AM препятствует снижению уровня супероксиддисмутазы (SOD) и повышению продуктов перекисного окисления липидов в ишемизированной ткани головного мозга. Инъекции тиронамина лабораторным животным в экспериментальной модели ишемического инсульта приводят к более выраженному регрессу двигательного дефицита, а также к улучшению показателей рабочей памяти. Доказана способность дейодированных форм тиронаминов индуцировать фармакологическую гипотермию, что также является перспективной нейропротекторной стратегией. Полученные данные убедительно доказывают наличие нейропротекторных эффектов у тиреоидных гормонов, а также перспективность воздействия на путь TAAR-сигналирования, активируемый тиронаминами, в качестве новой молекулярной мишени для фармакологической интервенции при ишемическом инсульте.

Другим инновационным методом, примененным автором диссертации, является менделевская рандомизация. Данный метод позволяет изучать тонкие молекулярные механизмы взаимодействия между экспрессией определенных генов, активностью различных протеинов и клиническими характеристиками заболеваний. Основой метода являются генетические ассоциации, представленные в международных консорциумах. В доступной русскоязычной литературе имеются практически единичные публикации об использовании данного метода в неврологических исследованиях. Вместе с тем, в одной только библиотеке PubMed отмечается рост числа англоязычных публикаций, посвященных менделевской рандомизации, с 204 публикаций в 2015 году до 1685 в 2022 году. Применяв данный метод, автор продемонстрировал убедительную взаимосвязь между

уровнем трийодтиронина и вероятностью неблагоприятного исхода инсульта на выборке более 10000 пациентов. В ходе анализа были использованы первичные данные различных международных генетических консорциумов, содержащие результаты ассоциаций миллионов генетических вариаций в многотысячных когортах 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 доказательства, а также данные геномного исследования, убедительно свидетельствующие о нейропротекторных эффектах трийодтиронина при острой ишемии головного мозга.

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. При этом экспрессия гена ядерного рецептора тиреоидных гормонов Бета влияет на активность антиапоптогенных факторов BCL-2 и MAPK2 (митоген-ассоциированная протеинкиназа).

В ходе анализа влияния экспрессии генов в ткани головного мозга на функциональный исход ишемического инсульта был идентифицирован ряд приоритетных генов, экспрессия которых контролируется в головном мозге тиреоидными гормонами. Увеличение экспрессии данных генов под влиянием тиреоидных гормонов ассоциировано с повышением шансов более благоприятного функционального исхода ишемического инсульта. Доказано влияние тиреоидных гормонов на экспрессию генов, активирующих сигнальные пути, связанные с маршрутизацией и выживаемостью аксонов, нейропластичностью, процессами регуляции ионных каналов и подавлением апоптоза. Представлены данные о

молекулярной основе рационального действия трийодтиронина и тироксина в условиях ишемии головного мозга, в частности, впервые продемонстрирована способность тироксина активировать новый механизм тромбообразования – нетоз (формирование внеклеточных нейтрофильных ловушек).

Таким образом, в ходе диссертационного исследования впервые доказано, что трийодтиронин и его синтетические аналоги могут выступать универсальными нейропротекторами, ингибирующими активность апоптоза в гиперострую фазу, и активирующие репаративные процессы в последующие периоды путем воздействия на сигнальный путь митоген-ассоциированной протеинкиназы и другие механизмы, способствующие нейропластичности.

Полученные автором данные подчеркивают необходимость мультидисциплинарного подхода при ведении пациентов с ишемическим инсультом, начиная от острейшей фазы и заканчивая восстановительным периодом. В ходе диссертационной работы показано негативное влияние на тяжесть и исход ишемического инсульта даже небольшого снижения (в пределах референтного диапазона) уровня трийодтиронина, что требует участия эндокринолога в разработке персонализированной схемы терапии. В рамках персонализированного подхода также имеет существенное практическое значение разработанный автором алгоритм раннего прогнозирования неблагоприятного функционального исхода ишемического инсульта, обладающий высокой точностью (92,6%). Существенное практическое значение имеют рекомендации по использованию селена для коррекции тиреоидных нарушений.

Реализация и апробация результатов исследования

Основные положения диссертации доложены на 8 международных конференциях в странах дальнего зарубежья, включая II и VIII Конгрессы Европейской организации по борьбе с инсультом, XIII и XVI Всемирный конгрессы по контраверсиям в неврологии, XXIII Всемирный неврологический конгресс, Первый совместный конгресс Европейской и Всемирной Организаций по борьбе с инсультом, XIII и XIV Всемирный инсультный конгрессы. Результаты клинической части исследования и аналитические исследования в области генома,

выполненные автором диссертации, были высоко оценены и отмечены наградами от Всемирной и Европейской организаций по борьбе с инсультом, что подтверждает международную научную значимость работы.

По материалам диссертации опубликовано 34 работы, из них в 11 статей в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК Донецкой Народной Республики и Российской Федерации, а также 1 работа в рецензируемом издании в США.

Разработанные автором рекомендации применяются в реальной клинической практике в ведущих неврологических центрах г. Донецка, а также при оказании высокотехнологической помощи с применением клеточных технологий в лаборатории тканевого и клеточного культивирования Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака.

Структура и содержание диссертации

Диссертация выполнена в классическом стиле, состоит из списка сокращений, введения, аналитического обзора литературы, главы, посвященной описанию материалов и методов, 4 глав собственных исследований, главы, посвященной обсуждению результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка цитированной литературы. Работа содержит 46 таблиц и 52 рисунка. Список литературы включает в основном англоязычные источники последних 5 лет.

Во введении автором представлено современное состояние проблемы эндогенной нейропротекции при инсульте, обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, а также научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту.

В литературном обзоре диссертант проводит анализ современного состояния проблемы и обосновывает необходимость проведенного данного исследования. Тщательно описаны молекулярные эффекты тиреоидных гормонов, а также проведена систематизация данных эффектов. Особое внимание автором уделено аналитическому описанию результатов исследований влияния тиреоидных гормонов на наиболее важные клеточные процессы, происходящие при острой

ишемии головного мозга, такие как, окислительный стресс, апоптоз, воспаление и гемостаз. Показана многокомпонентность действия тиреоидных гормонов на различные молекулярные мишени, ассоциированные с повышением устойчивости нейронов и нейроглии к ишемии, аргументирована высокая перспективность исследования влияния тиреоидного профиля на течение и функциональные исходы инсульта. В обзоре автор также приводит описание возможностей метода менделевской рандомизации и полногеномных ассоциативных исследований в изучении патофизиологических процессов, происходящих при острой ишемии головного мозга.

Во второй главе представлена подробная характеристика и описание плана клинического исследования. Детально описаны применяемые в работе методы обследования и оценочные шкалы. Подробно изложены методы и инструменты проведения статистического анализа. Собственные данные, полученные диссертантом, подтверждаются достаточным объемом представленных выборок, адекватными методами статистической обработки полученных данных, заданными уровнями статистической значимости и статистической мощности. Также представлено описание методов экспериментального этапа исследования, приведены характеристики разработанного синтетического аналога тиронамина, подробно описаны неврологические и поведенческие тесты, используемые в экспериментальном исследовании. Автором выбрана модель ишемического инсульта, отражающая наиболее распространённый атеротромботический подтип.

В главах собственных исследований изложено последовательное, научно-обоснованное описание процесса и результатов исследования. В ходе клинического этапа исследования, включавшего 158 пациентов с ишемическим инсультом, впервые убедительно продемонстрирована ассоциация высоких уровней трийодтиронина (в том числе выше референтного интервала) с менее выраженным неврологическим дефицитом в остром периоде инсульта и его более благоприятным исходом. Показано, что каждое увеличение уровня свободного трийодтиронина на 1 пмоль/л в острейшем периоде инсульта ассоциировано с увеличением суммы баллов по Скандинавской шкале на 3 балла (95% ДИ 0.15 -

5.91) и со снижением риска неблагоприятного функционального исхода инсульта на 46%. Отражено разнонаправленное влияние уровней трийодтиронина и тироксина на тяжесть и функциональный исход инсульта. Впервые описаны клиничко-неврологические характеристики ишемического инсульта у пациентов с различным тиреоидным профилем в острейшем периоде с акцентом на благоприятные эффекты высоких уровней трийодтиронина.

Высокой научной новизной и наукоемкостью проведенного исследования характеризуется пятая глава, посвященная экспериментальному этапу диссертационной работы. Для выполнения поставленных задач автору удалось организовать совместную работу двух крупных научно-исследовательских институтов. В ходе совместной работы был синтезирован новый структурно модифицированный аналог эндогенного тиронамина (метаболита тиреоидных гормонов). При синтезе использовались современные технологии, такие как оптимизация молекулярной геометрии квантово-химическим методом, оценка магнито-резонансного спектра. В главе тщательно описаны биологические эффекты тиронамина, такие как его влияние на двигательный дефицит, показатели активности окислительного стресса, когнитивные функции с использованием соответствующих поведенческих тестов.

Шестая глава диссертации посвящена исследованию влияния тиреоидных гормонов на риск и исход васкулярно-церебральной патологии, а также идентификации механизмов, лежащих в основе данного влияния. Автором организован доступ к международным базам данных с информацией о генетически-фенотипических ассоциациях, таких как каталог GWAS-исследований отдела интегративной эпидемиологии Бристольского Университета, консорциум MEGASTROKE (суммарные данные 520,000 пациентов с ишемическим инсультом), сеть GISCOME network (данные о генетических предикторах исхода инсульта у 6,165 пациентов из 12 стран), проект «Геномный атлас протеома плазмы», консорциум THYROIDOMICS (8 миллионов генетических вариантов, ассоциированных с функцией щитовидной железы у 72167 индивидуумов). Представленные результаты исследования отображены в графиках и таблицах,

подробно описаны этапы анализа и используемые генетические инструменты. Особый интерес и научную новизну представляют данные о влиянии тиреоидных гормонов и их ядерных рецепторов на активность сигнальных путей, связанных с апоптозом. Важное практическое значение имеют данные об влиянии селена на функциональный исход ишемического инсульта.

Выводы сформулированы четко, логично вытекают из полученных результатов, полностью соответствуют поставленным задачам. В целом, работа имеет большое как научное, так и практическое значение, выполнена на современном уровне.

Автореферат диссертационной работы написан логично, хорошо изложен, доступен для восприятия. По структуре и объему соответствует всем требованиям ВАК.

Принципиальных замечаний к диссертации нет. В ходе знакомства с диссертацией возникло несколько вопросов в рамках научной дискуссии:

1. В литературе имеются данные о снижении уровня трийодтиронина у пациентов старшего и пожилого возраста. Отмечалась ли в вашем исследовании связь уровня свободного трийодтиронина с возрастом, и можно ли считать наблюдаемое снижение трийодтиронина в острейшем периоде инсульта адаптивным процессом?

2. В чем вы видите практическое значение идентифицированных молекулярных механизмов влияния тиреоидных гормонов на функциональные исходы ишемического инсульта?

Заключение

Диссертационное исследование *Филимонова Дмитрия Алексеевича* является самостоятельной, завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных на высоком методическом уровне исследований и собственных разработок представлено решение важной научной проблемы современной медицины, заключающейся в поиске новых факторов, влияющих на тяжесть и исход васкулярно-церебральной патологии, а также в

