

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертацию Фефеловой Елены Викторовны
«Патогенетические эффекты гипергомоцистеинемии
в эксперименте и клинике», представленную на соискание
ученой степени доктора медицинских наук по специальности
14.03.03. – патологическая физиология

Актуальность работы

Гомоцистеин – серосодержащая аминокислота, которая является промежуточным продуктом обмена аминокислот метионина и цистеина. Высокий уровень гомоцистеина в крови (гипергомоцистеинемия) свидетельствует или о нарушении метаболизма гомоцистеина, или о дефиците фолиевой кислоты, витаминов В₆, В₁₂, или о нарушении функции почек. Пациенты с почечной недостаточностью имеют высокий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Ретроспективные и проспективные исследования показывают тесную связь гипергомоцистеинемии и сердечно-сосудистых заболеваний: венозные и артериальные тромбозы, тромбоэмболия легочной артерии, инсульт и инфаркт миокарда. У людей с повышенным уровнем гомоцистеина повышается риск возникновения болезни Альцгеймера и старческого слабоумия. При сочетании гипергомоцистеинемии и сахарного диабета чаще возникают сосудистые осложнения – заболевания периферических сосудов, нефропатия, ретинопатия. Во время беременности повышенные уровни гомоцистеина приводят к нарушениям фетоплацентарного кровообращения, что может быть причиной невынашивания беременности и бесплодия в результате дефектов имплантации зародыша.

Однако, остается не решенным вопрос, является ли гипергомоцистеинемия самостоятельным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний или повышение уровня гомоцистеина есть следствие других состояний, предрасполагающих к развитию сердечно-сосудистой патологии – курения, наличия сахарного диабета и артериальной гипертензии.

В связи с этим работа Фефеловой Е.В., в которой доказывается, что гипергомоцистеинемия является самостоятельным фактором риска развития атеросклероза и гипертонической болезни, безусловно, актуальна.

Автор обоснованно выбрал модели гипергомоцистеинемии *in vitro* и *in vivo* для доказательства ее самостоятельной роли. Диссертантом было показано,

что гипергомоцистеинемия может вызывать как прямое повреждение (например, гибель фибробластов при уровне Hcy 50 мкмоль/л в культуральной среде), в первую очередь, путем активации окислительного стресса, так и опосредованное (модификация белков организма, образование окисленных форм ЛПНП, конкурентное взаимодействие за глутаматные рецепторы и т.д.). Повышение концентрации гомоцистеина в кровотоке приводит к повреждению как эндотелия сосудов, вызывая развитие его дисфункции, так и лейкоцитов. Причем, в большей степени наблюдается реакция со стороны Т-лимфоцитов. Однако, автором установлено, что у здоровых лиц и страдающих атеросклеротическим процессом, ответ разный. Так, у доноров высокие цифры аминотиолов вызывают снижение числа и активности Т-хелперов и увеличение цитотоксических Т-лимфоцитов. У больных ИБС – напротив резко уменьшается количество CD8-Т-лимфоцитов. При этом, во всех группах наблюдается увеличение экспрессии молекул адгезии, тканевого фактора, маркеров апоптоза всеми видами лейкоцитов, более выраженное в культурах периферической крови больных ИБС. В то же время, Е.В. Фефеловой продемонстрировано, что низкие концентрации гомоцистеина (Hcy) стимулируют рост фибробластов и синтез ими коллагена.

Активация единой клеточно-гуморальной системы защиты организма в первую очередь направлена на локализацию повреждения, элиминацию повреждающего фактора и восстановление нарушенной структуры и функции ткани. Однако, гиперкоагуляция способствует развитию тромбоэмболических осложнений, активация иммунной системы – образованию аутоантител к собственным структурам организма и запуску аутоиммунных процессов, стимуляция неспецифической резистентности организма – проявляется в ускорении процесса перекисного окисления липидов, интенсификации образования лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов, повышении синтеза хемокинов, факторов роста; повышенная выработка IL-1 β , IL-6, TNF- α усиливает вторичную альтерацию и приводит к воспалительному каскаду событий, влияющих на течение фолатного цикла, что приводит к развитию гипергомоцистеинемии.

Таким образом, нарушение поддержания аминотиолов на постоянном уровне инициирует, ускоряет и поддерживает развитие воспалительного процесса в организме.

В связи с вышеизложенным, работа Фефеловой Елены Викторовны представляет большой интерес в теоретическом и практическом отношениях.

Степень обоснованности научных положений, выводов, сформулированных в диссертации

Перед диссертантом была поставлена цель изучить патогенетическую роль гипергомоцистеинемии в инициации ответа единой клеточно-гуморальной системы защиты организма в эксперименте и клинике, в связи с чем было выдвинуто 10 задач.

Для достижения цели и решения задач диссертантом проведено комплексное обследование 111 пациентов с диагнозом ишемическая болезнь сердца, 60 - с диагнозом гипертоническая болезнь, 23 – с диагнозом хронический риносинусит в стадии рецидива и ремиссии. Группу здоровых лиц составил 91 волонтер. В эксперимент *in vivo* включено 80 животных, у 20 из которых был индуцирован иммунодефицит. Изучался ответ клеток периферической крови у 15 относительно здоровых, некурящих добровольцев – мужчин, средний возраст которых составил $35,4 \pm 4,7$ лет и 16 больных ишемической болезнью сердца (стабильная стенокардия 2 функционального класса), а также культуры фибробластов человека линии М-22 в экспериментах *in vitro*.

Автором применены современные методы лабораторных (гемостазиологические, биохимические, иммунологические, морфологические, гистохимические) исследований. Также проведена корректная статистическая обработка материала с использованием непараметрических методов, выполнен метод множественной пошаговой регрессии для построения математической модели расчета толщины интима-медиа.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертационного исследования заключается в оценке ответа единой клеточно-гуморальной системы защиты организма на гипергомоцистеинемию. Диссертантом показано, что высокие концентрации гомоцистеина изменяют фенотип и функциональную активность иммунокомпетентных клеток, причем ответ лейкоцитов у здоровых и больных с атеросклеротическим процессом имел существенные отличия. Кроме того, высокие уровни аминотиолов вызывают гибель лейкоцитов, кардиомиоцитов как путем апоптоза, так и некроза. При этом установлено также, что низкие концентрации гомоцистеина усиливают пролиферацию фибробластов.

Диссертантом показано, что у животных при введении в организм экзогенного гомоцистеина и гомоцистеин-тиолактона наблюдается резкое повышение титра аутоантител к альбумину, модифицированному гомоцистеином.

Автором доказано, что гиперкоагуляция, развивающаяся на фоне гипергомоцистеинемии, обусловлена ростом числа эндотелиоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов и фибробластов, несущих на своей поверхности тканевой фактор и, как следствие этого, формированием тромбинемии.

Е.В. Фефеловой впервые показано, что наиболее высокий уровень окисленных липопротеидов и аутоантител к ним зафиксирован у здоровых людей в возрасте от 18 до 35 лет. Их концентрация имеет зависимость от стажа курения (максимален при стаже 10 и более лет), тяжести ИБС и стадии гипертонической болезни.

Научная и практическая значимость полученных результатов исследования

Автором выявлено, что экзогенная гипергомоцистеинемия приводит к изменению фенотипа и функциональной активности лейкоцитов периферической крови, экспрессии молекул адгезии, стимулированию программированной гибели клеток, развитию гиперкоагуляции и иницированию аутоиммунного процесса, а также к активации единой клеточно-гуморальной системы защиты организма.

Однако, активация единой клеточно-гуморальной системы защиты организма при экзогенной гипергомоцистеинемии, в первую очередь направленная на локализацию повреждения, элиминацию повреждающего фактора и восстановление нарушенной структуры и функции ткани, вызывает развитие вторичной альтерации, проявляющейся в формировании тромбоэмболических осложнений, образовании аутоантител к собственным структурам организма и запуску аутоиммунных процессов, в том числе атеросклерозу, ускорении процесса перекисного окисления липидов, интенсификации образования лейкоцитарно-тромбоцитарных коагратов, повышенном синтезе хемокинов, факторов роста, повышенной выработке IL-1 β , IL-6, TNF- α , что приводит к формированию воспалительного каскада событий, влияющих на течение фолатного цикла, и как следствие этого – к развитию ГГЦ, замыкая порочный круг.

Полученные результаты исследования могут являться основой для внесения дополнений в алгоритм диагностики атеросклеротического процесса, что позволит выявлять заболевание на ранних этапах его развития.

Структура и объем диссертации

Объем, структура, логика подачи материала в диссертации замечаний не вызывают. Диссертационное исследование оформлено традиционно, изложено на 272 страницах печатного текста, включает введение, 4 главы: «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты собственных исследований», «Обсуждение полученных результатов», выводы, список литературы. Диссертация содержит 66 таблиц и 29 рисунков. Список литературы включает 161 отечественный и 194 зарубежных источника.

Глава собственных исследований написана литературным языком, с четким и подробным изложением материала, оформлена в соответствии с действующим ГОСТ, иллюстрирована информативными таблицами и рисунками.

В целом для работы характерна последовательность изложения и обоснованность выполненных научных исследований. Логика исследования отражена в последовательно поставленной цели, вытекающих из нее задачах, которые закономерно раскрываются в положениях, выносимых на защиту, а также выводах.

Положения, вынесенные на защиту, выводы сформулированы корректно, аргументированы, подтверждены статистическим анализом полученных данных. В представленной диссертации Е.В. Фефелова демонстрирует хорошее знание состояния вопроса, умело использует современную литературу для обсуждения полученных результатов.

Материалы диссертации полностью освещены в научной печати – опубликовано 44 печатные работы, в том числе 21 - в ведущих рецензируемых научных журналах, входящих в список, определенный ВАК Минобрнауки России для публикации результатов работ на соискание ученой степени доктора наук, 5 работ находятся в международных базах цитирования.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, написан четко, оформлен, согласно требованиям, иллюстрирован 12 рисунками.

Результаты работы могут быть полезными для понимания механизмов возникновения и развития атеросклероза и гипертонической болезни, а также

для выявления возможных механизмов защиты организма от токсического повреждения гипергомоцистеинемией. Кроме того, при соответствующей клинической апробации данные исследования могут являться основой для внесения дополнений в алгоритм диагностики атеросклеротического процесса, что позволит выявлять заболевание на ранних этапах его развития.

Материалы данного исследования могут использоваться в лекционных и практических занятиях для студентов биологических и медицинских факультетов университетов, академий и медицинских институтов.

Замечания и вопросы по содержанию работы

В тексте диссертации содержится ряд стилистических и орфографических погрешностей, которые, впрочем, ни в коей мере не являются принципиальными и не влияют на научную и практическую ценность диссертационного исследования.

В рамках дискуссии хотелось бы получить ответ на следующие вопросы:

1. Чем Вы можете объяснить наиболее высокий уровень окисленных липопротеидов и аутоантител к ним у здоровых людей в возрасте от 18 до 35 лет?
2. Каков, на Ваш взгляд, механизм увеличения уровня тканевого фактора на лимфоцитах в условиях гипергомоцистеинемии?

Заключение. Диссертация Фефеловой Елены Викторовны «Патогенетические эффекты гипергомоцистеинемии в эксперименте и клинике», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является самостоятельной научно-квалификационной работой, результаты которой обеспечивают решение актуальной научной проблемы, раскрывающей клеточно-молекулярные эффекты гипергомоцистеинемии, лежащие в основе инициации и развития атеросклероза и гипертонической болезни и имеющей первостепенное значение как для специальности «патологическая физиология», так и для медицины в целом.

Диссертация соответствуют п. 2 «изучение общих патогенетических механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенного фактора, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний», п. 3 «Анализ механизмов саногенеза, направленных на предотвращение

повреждающего действия патогенного агента на организм, его органы и системы, изучение причин и особенностей взаимной трансформации саногенетических и патогенетических механизмов», а также п. 9 «Изучение этиологии, патогенетических и саногенетических механизмов при заболеваниях конкретных органов и систем, а также патогенетических основ их клинической симптоматики» паспорта специальности 14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки).

Диссертационная работа Е.В. Фефеловой «Патогенетические эффекты гипергомоцистеинемии в эксперименте и клинике» по специальности 14.03.03. – патологическая физиология соответствует требованиям п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а соискатель достоин присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Заведующий кафедрой нормальной физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Заслуженный работник ВШ РФ, д.м.н., профессор

Шахматов Игорь Ильич

Данные о докторе медицинских наук, профессоре

Шахматове И.И. заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО АГМУ

Минздрава России,

к.м.н., доцент



Алехеева Н.М.

«25» мая 2021 г.