

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Бодиенковой Галины Михайловны на диссертационную работу Бардоновой Людмилы Андреевны «Роль изменения морфофункциональной характеристики клеток межпозвонкового диска и продукции ими межклеточного матрикса под влиянием цитокинов в патогенезе дегенерации межпозвонкового диска», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки).

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа Бардоновой Л. А. посвящена актуальной в современный период теме, которая определяется высокой медико-социальной и экономической значимостью проблемы профилактики и лечения дегенеративно-дистрофических поражений межпозвонкового диска (МПД). Прежде всего, это связано с широкой распространенностью дегенеративно-дистрофических процессов МПД среди населения, многообразием клинических проявлений, недостаточной эффективностью консервативного лечения. Известно, что в развитии процессов дегенерации МПД, важную роль играют воспалительные реакции, которые способствуют изменению клеточного фенотипа, дисбалансу между катаболическими и анаболическими процессами, характерными для дегенерации МПД. Однако механизмы цитокиновой регуляции в патогенезе и саногенезе дегенеративно-дистрофических процессов МПД, роль трансформирующих факторов роста, играющих важную роль в накоплении межклеточного матрикса, изучены не достаточно. Все это является необходимым для разработки новых патогенетически обоснованных подходов к регенерации МПД. В этой связи, диссертационная работа Бардоновой Л. А., **целью** которой являлось исследование изменений морфофункциональной характеристики клеток неповрежденных и дегенерированных межпозвонковых дисков под воздействием провоспалительных цитокинов и костных морфогенетических факторов роста в эксперименте для определения механизмов патогенеза

дегенерации межпозвонковых дисков, является, несомненно, актуальной. Задачи логично вытекают из поставленной цели, конкретны, последовательны.

Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна исследования не вызывает сомнений и заключается в том, что автором впервые установлены патогенетические механизмы влияния провоспалительных цитокинов на изменения потребности клеток МПД в питательных веществах. Автором выявлены особенности взаимосвязи диффузионного транспорта воды, растворенных в ней веществ с морфологическими изменениями межпозвонкового диска человека при дегенерации. Установлены различия метаболической активности клеток пульпозного ядра и фиброзного кольца неповрежденного и дегенерированного МПД, в том числе выявлены закономерности изменения показателей метаболической активности, продукции основного компонента межклеточного матрикса – гликозаминогликанов, морфологии клеток под влиянием провоспалительных цитокинов и ряда костных морфогенетических белков. Автором показано, что морфологические изменения дегенерированных и неповрежденных клеток МПД в трехмерной модели при сокультивировании с макрофагоподобными клетками линии ТНР-1 соответствуют изменениям, наблюдаемым в дегенерированном МПД человека. На основании выполненных исследований предложены и научно обоснованы концептуальные схемы патогенеза дегенерации межпозвонкового диска и саногенеза с использованием отдельных костных морфогенетических белков.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Полученные результаты позволяют дополнить существующие представления о сано - и патогенетических механизмах, лежащих в основе развития дегенеративного процесса межпозвонковых дисков. Приоритетными являются сведения о роли провоспалительных цитокинов и КМБ - 2, -7, -14 в регуляции потребления глюкозы клетками МПД *in vitro*. Данные о

потреблении глюкозы и выделении лактата клетками в дальнейшем могут быть использованы для моделирования процессов регенерации и дегенерации межпозвонковых дисков. Доказана практическая возможность моделирования воздействия комплекса провоспалительных цитокинов на модели сокультивирования клеток МПД в трехмерной культуре с макрофагоподобными клетками линии ТНР-1.

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс и используются в научно-исследовательской практике кафедры нейрохирургии и инновационной медицины и кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России при подготовке студентов, ординаторов, аспирантов и врачей по специальности «нейрохирургия».

**Степень обоснованности и достоверность научных положений,
выводов, сформулированных в диссертации**

Результаты диссертации базируются на достаточном объеме выполненных исследований, научном анализе и применении широкого спектра современных и адекватных поставленным задачам методов исследования (диффузионно-взвешенная магнитно-резонансная томография, гистологические, иммуноцитохимические, спектрофотометрические методы, морфометрия, фазово-контрастная, конфокальная, электронная микроскопия и др.), основанных на утвержденных методических указаниях, рекомендациях. Автором проведено комплексное исследование клинического биопсийного материала 30 пациентов и 14 образцов аутопсийного материала, а также клеточных культур пульпозного ядра и фиброзного кольца межпозвонковых дисков поясничного отдела позвоночника. Статистическая обработка полученных данных проведена в соответствии с международными правилами и стандартами, что делает представленные результаты достоверными. Положения, выносимые на защиту, и выводы обоснованы и сформулированы на основе системного подхода к решению поставленных задач.

Полнота изложения основных результатов работы в научной печати

Исследования выполнены в рамках двух грантов – гранта Российского научного фонда (№ 15-15-30037) и стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам (СП-2545.2018.4). По материалам диссертационного исследования опубликовано 19 печатных работ, среди которых 8 – в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ и 10 – в ведущих рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus. Результаты диссертационного исследования широко представлены на региональных, всероссийских, зарубежных научно-практических конференциях, конгрессах, съездах.

Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертации.

Структура диссертации, ее содержание и завершенность в целом

Диссертационная работа выполнена в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11–2011, изложена традиционно, является целостным завершенным трудом и представляет собой рукопись, изложенную на 138 страницах машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы. Список литературы включает 254 источника, из них 20 на русском и 234 на иностранных языках. Иллюстрационный материал информативен, отражает наиболее ключевые и важные результаты, представлен 5 таблицами и 34 рисунками и схемами.

Во введении Л. А. Бардонова аргументировано подчеркивает актуальность исследования. Автором представлены данные о степени разработанности темы, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Сформулированы основные положения, выносимые на защиту. Представлены данные о степени достоверности работы, личном участии автора, методологии и методах исследования, публикациях и апробации материалов диссертации.

В обстоятельном «Обзоре литературы» (глава 1) Л. А. Бардонова подробно представляет современные сведения об особенностях дегенерации межпозвонкового диска и его этиопатогенезе, о перспективах применения

методов биологической коррекции и профилактики заболевания. Изложенный в обзоре литературы материал позволяет заключить об актуальности и новизне выполненных исследований.

В главе 2 «Материалы и методы исследования» автор обосновывает методические приемы исследования. Представляет характеристику исследованного клинического и аутопсийного материала, методы работы с культурами клеток и логичный дизайн экспериментальных исследований. Достаточно подробно представлены инструментальные, лабораторные, морфологические и другие методы, используемые в работе.

«Результаты собственных исследований и их обсуждение» представлены в третьей главе, которая состоит из 3 разделов, изложенных в логической последовательности в соответствии с поставленными задачами исследования. Л. А Бардонова, анализируя клинический биопсийный материал и образцы аутопсийного материала с помощью методов диффузионно-взвешенной магнитно-резонансной томографии и морфологии, заключает о наличии значимой обратной ранговой корреляции клеточной плотности и коэффициентов диффузии в различных отделах межпозвонкового диска. Аргументировано обосновывает характерные для дегенерации МПД морфологические изменения. При этом автором показана сопряженность морфологических изменений с изменением состава межклеточного матрикса и спектром синтезируемого коллагена. В частности, в тканях диска с коэффициентом диффузии менее $15 \cdot 10^{-4}$ мм²/с, кроме агреканов, коллагенов I и II типа так же выявлены коллагены X и XI типов.

Особого внимания заслуживает клеточный фрагмент исследования, раскрывающий патофизиологические механизмы реакции клеток межпозвонкового диска на провоспалительные цитокины и костные морфогенетические протеины. В результате мультиплексного анализа и данных конфокальной микроскопии, установлено, что провоспалительные цитокины оказывают непосредственное влияние на клетки межпозвонкового диска в трехмерной культуре, повышая уровень гликолиза и одновременно снижая синтетическую активность как неповрежденных, так и дегенерированных

клеток фиброзного кольца и пульпозного ядра. С помощью использованной модели трехмерного культивирования выявлены морфологические признаки изменения клеток, характерные для дегенерации межпозвонкового диска человека. Автор подробно описывает и анализирует изменения продукции лактата и межклеточного матрикса клетками МПД под влиянием костных морфогенетических белков. Обосновывает возрастание продукции гликозаминогликанов при культивировании неповрежденных клеток пульпозного ядра с костными морфогенетическими белками -7 и -14. При этом не отмечается значительных изменений в потреблении глюкозы.

В разделе «Заключение» автор резюмирует полученные результаты, сопоставляет их с данными литературы последних лет, определяя значение каждого из полученных фактов, и на основе этого предлагает и научно обосновывает концептуальные схемы патогенеза дегенерации МПД и саногенеза данной патологии с использованием костных морфогенетических белков - 2, -7 и -14.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Результаты диссертационной работы представляют собой теоретическую основу для дальнейшего совершенствования и разработки новых методов клеточной терапии и технологий регенерации межпозвонковых дисков. Полученные результаты могут использоваться в научных исследованиях, касающихся изучения патогенеза и саногенеза дегенеративно-дистрофических поражений межпозвонкового диска. Научные положения и выводы диссертации представляют большой интерес для патофизиологов, неврологов, нейрохирургов.

Таким образом, выполнена актуальная фундаментальная работа, имеющая научное и практическое значение. Принципиальных замечаний по работе нет. Наряду с общей положительной оценкой хотелось бы задать вопросы дискуссионного характера и высказать замечание, которые в целом не сказываются на научной и практической ценности работы.

– Какова значимость про- и противовоспалительных цитокинов в саногенезе дегенеративно-дистрофических поражений межпозвонкового диска (возможно по данным литературы)?

– Вы акцентируете внимание на саногенетической роли костных морфогенетических белков, уточните, пожалуйста, их патогенетическую значимость в процессах дегенерации межпозвонкового диска?

– В разделах «Заключение» и «Выводы» не достаточно отражена задача № 6.

Заключение

Диссертационная работа Бардоновой Людмилы Андреевны на тему «Роль изменения морфофункциональной характеристики клеток межпозвонкового диска и продукции ими межклеточного матрикса под влиянием цитокинов в патогенезе дегенерации межпозвонкового диска», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, является законченной научно-квалификационной работой в которой, на основании выполненных автором исследований, содержится решение актуальной научной задачи по исследованию изменений морфофункциональной характеристики клеток неповрежденных и дегенерированных межпозвонковых дисков под воздействием провоспалительных цитокинов и костных морфогенетических факторов роста в эксперименте для определения механизмов патогенеза дегенерации межпозвонковых дисков. По своей актуальности, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, представленная диссертационная работа полностью соответствует п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842, в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 №335, с изменениями Постановления Правительства РФ № 1024 от 28.08.2017, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Указанная область исследования соответствует паспорту специальности 14.03.03 – патологическая физиология, а именно: 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» и п. 9 «Изучение этиологии, патогенетических и саногенетических механизмов при заболеваниях конкретных органов и систем, а также патогенетических основ их клинической симптоматики».

Официальный оппонент:

Заведующая лабораторией иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», доктор медицинских наук, профессор,
«21» 11 2019 г.



Бодиенкова Г.М.

Подпись д.м.н., профессора Бодиенковой Г.М. заверяю:

Начальник отдела кадров



Мандрик Е.А.

Сведения об официальном оппоненте:

Бодиенкова Галина Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией иммуно-биохимических и молекулярно-генетических исследований в гигиене Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований». Адрес: 665827, Россия, Иркутская область, г. Ангарск, 12 «А» микрорайон, 3; телефон: +7 (3955) 58-69-10; <http://vsimeir.ru>, e-mail: immun11@yandex.ru.