

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента на диссертацию Морозова Сергея Александровича «Лимфоидные и миелоидные клетки с иммунорегуляторной активностью у пациентов в остром периоде ишемического инсульта», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология»

### **Актуальность темы диссертации**

Актуальность диссертационного исследования С.А. Морозова обусловлена распространенностью острых нарушений мозгового кровообращения, высоким уровнем инвалидизации пациентов, перенесших инсульт, недостаточной изученностью клеточно-молекулярных механизмов развития инсульта и, как следствие, потребностью в разработке новых подходов к профилактике, терапии и реабилитации. В последние годы все больший интерес исследователей привлекает изучение роли иммунного ответа в патогенезе инсульта. Такие работы обычно сфокусированы на оценке событий, связанных с развитием и прогрессированием нейровоспаления, вместе с тем, роль различных субпопуляций клеток, обеспечивающих врожденный и адаптивный иммунитет, остается мало изученной. В этом контексте, особый интерес представляют клетки периферической крови, которые рекрутируются в ответ на развитие нейровоспаления и могут вносить существенный вклад в повреждение гематоэнцефалического барьера и ткани головного мозга. Не менее актуальной задачей является изучение aberrантного иммунного ответа по варианту иммуносупрессии, обусловленного системными нарушениями в организме при инсульте, что важно для профилактики развития инфекционных осложнений в раннем постинсультном периоде.

Поставленные автором диссертации цель исследования, заключающаяся в оценке патогенетической и прогностической значимости лимфоидных и миелоидных клеток в остром периоде ишемического поражения головного мозга, и соответствующие задачи по анализу

различных субпопуляций иммунорегуляторных клеток, ориентированы на получение новых данных об ответе иммунной системы на острое нарушение мозгового кровообращения. Несомненно, такого рода работы являются актуальными и перспективными, прежде всего, с точки зрения возможной трансляции их результатов в современную клиническую неврологию, клиническую лабораторную диагностику и нейрофармакологию.

### **Новизна проведенных исследований и полученных результатов**

Дизайн исследования, подразумевающий комплексную оценку нескольких популяций и субпопуляций лимфоидных и миелоидных клеток периферической крови, а также маркеров системного воспаления, неврологической дисфункции в динамике развития заболевания, с последующим скрупулезным статистическим анализом, позволил получить интересные результаты, обладающие научной новизной. Так, автором получены новые данные о том, что выраженность системной воспалительной реакции у пациентов с ишемическим инсультом не только ассоциирована с тяжестью поражения головного мозга, но и соответствует развитию инфекционных осложнений и эффективности реабилитации (в большей степени, чем интегральный показатель по шкале NIHSS). Впервые показано, что интенсивность системного воспалительного ответа коррелирует с уровнем Т-лимфоцитов и моноцитов в периферической крови пациентов: чем более выражено системное воспаление, тем меньше абсолютное количество CD4+CD25hi клеток и больше - CD4+IFN $\gamma$ + клеток, выше доля моноцитов и меньше лимфоцитарно-моноцитарный индекс, больше выражено присутствие промежуточных и неклассических моноцитов (CD14++CD16+/CD14+CD16++) на фоне снижения классических (CD14++CD16-) фракций моноцитов. Интересной находкой автора следует считать обнаружение факта увеличения трех субпопуляций миелоидных супрессорных клеток в остром периоде инсульта, что интерпретируется С.А.



Морозовым как проявление противовоспалительного компонента иммунного ответа: например, содержание Lin-CD33+ имеет обратную зависимость от уровня С-реактивного белка, аналогичная обратная зависимость зарегистрирована между Lin-HLA-DR-CD33+ миелоидными клетками и CD4+IFN $\gamma$ + Т-лимфоцитами. Впервые показано, что повышенное содержание CD4+CD25hi клеток и пониженное содержание CD4+IFN $\gamma$ + клеток двукратно снижает риск развития инфекционных осложнений у больных со среднетяжелым и тяжелым течением инсульта. Примечательно, что развитие лимфопении и инфекционных осложнений не было сопряжено у пациентов в остром периоде инсульта с более высоким содержанием иммуносупрессорных субпопуляций лимфоидных и миелоидных клеток. Особого внимания заслуживают полученные автором новые данные о фенотипе клеток-предикторов эффективности нейрореабилитации: большая представленность CD4+CD25hi Т-клеток, CD14+HLA-DR- и Lin-HLA-DR-CD33+CD66+ миелоидных клеток соответствует хорошему прогнозу коррекции неврологического дефицита через 3 месяца после инсульта. Для этих же пациентов характерно высокое содержание CD4+CD25hi и CD14+HLA-DR иммунокомпетентных клеток. Благодаря выполненному ROC-анализу автору удалось впервые продемонстрировать, что соотношение CD4+IFN $\gamma$ + / CD4+CD25hi и относительное содержание миелоидных супрессоров имеют наибольшую прогностическую значимость, особенно в комбинации с баллом по шкале NIHSS. Таким образом, новые данные о прогностической значимости исследуемых субпопуляций, в частности, о роли соотношения иммунокомпетентных клеток как информативном предикторе развития инфекционных осложнений или низкой эффективности восстановления, открывают перспективы для объективного лабораторного мониторинга нейровоспаления/системного воспаления и оценки прогноза течения инсульта.

## **Степень обоснованности научных положений, выводов, сформулированных в диссертации**

Исследование выполнено в полном соответствии с поставленными целью и задачами диссертации, сформулированные положения и выводы основаны на полученных автором результатах и их грамотной интерпретации. Автором на достаточном материале, с глубоким анализом клинической характеристики пациентов, изучена ассоциация содержания лимфоидных и миелоидных клеток, обладающих регуляторной активностью, с риском развития инфекционных осложнений и исходами инсульта. В работе применен хороший современный подход к статической обработке результатов, что позволило автору логично и корректно оценить большой массив полученных данных, кроме того, автором использованы элементы прогностического моделирования. Обоснованность заключений подтверждается и обсуждением, выполненным автором по результатам своей работы – оно демонстрирует способность автора критически анализировать и грамотно оценивать собственные данные. Личное участие автора в выполнении всех разделов работы, на что указано в автореферате, свидетельствует о реализованном с его стороны контроле качества исследования. Результаты исследования обсуждены на научных конференциях международного и российского уровней, опубликованы в 5 научных трудах в профильных журналах.

Таким образом, обоснованность результатов, научных положений и выводов диссертации С.А. Морозова не вызывает сомнений.

## **Значимость результатов, полученных в диссертации, для науки и практики**

Значимость полученных результатов для фундаментальной науки (иммунология, клеточная биология, нейробиология) обусловлена следующими аспектами: 1) новые данные о роли иммунокомпетентных клеток в развитии системного воспаления и восстановлении при инсульте



расширяют представления о клеточно-молекулярных механизмах ишемии головного мозга; 2) данные о различном вкладе отдельных субпопуляций клеток иммунной системы в патогенез инсульта уточняют роль иммунной системы в развитии воспаления и нейровоспаления.

Значимость результатов диссертационного исследования для практической деятельности (медицина, фармакология) определяется тем, что в работе: 1) полученные данные о роли различных субпопуляций лимфоидных и миелоидных клеток в остром периоде инсульта формируют предпосылки к идентификации новых молекул-мишеней для таргетной терапии нейровоспаления и системного воспаления; 2) показана возможность использования показателей, характеризующих соотношение различных субпопуляций лимфоцитов и миелоидных клеток, для оценки прогноза течения инсульта, восстановления неврологических функций; 3) идентифицированные автором фенотипы клеток, соответствующие различным вариантам течения инсульта, позволяют использовать их в качестве маркеров для лабораторной диагностики.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы**

Считаю, что результаты диссертационного исследования С.А. Морозова могут быть использованы в следующих областях: 1) фундаментальная и клиническая иммунология (при планировании и реализации проектов, ориентированных на изучение роли иммунного ответа в патогенезе типовых патологических процессов, связанных с системным воспалением); 2) клиническая лабораторная диагностика (при разработке алгоритмов диагностики и прогнозирования течения заболеваний, сопровождающихся развитием системного воспаления); 3) неврология (при прогнозе течения ишемического повреждения головного мозга); 4) фармакология (при разработке и оценке эффектов лекарств-кандидатов, влияющих на купирование нейровоспаления и неврологического дефицита); 5) высшее

профессиональное образование в сфере медицины и биологии. Все указанные направления могут быть реализованы в университетах, клинических и академических центрах Российской Федерации.

**Оценивая содержание диссертации в целом,** хочу отметить, что стиль изложения материала достаточно академичен, работа читается с интересом. Диссертация построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, главы результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов и библиографического указателя, включающего 2 отечественных и 207 зарубежных источников. Работа хорошо иллюстрирована, в основном, таблицами.

Во введении автор обосновывает выбор темы, привлекая внимание к факту недостаточной изученности врожденного и адаптивного и иммунного ответа при ишемическом инсульте. Цель сформулирована четко, поставленные задачи соответствуют поставленной цели. Положения, выносимые на защиту, отражают наиболее существенные результаты выполненного исследования.

Обзор литературы демонстрирует широкий кругозор С.А. Морозова, в равной степени хорошее владение материалом иммунологической и неврологической направленности. Автор полно анализирует имеющиеся в литературе данные о роли иммунного ответа в развитии острого нарушения мозгового кровообращения и его осложнений. Считаю, что этот раздел диссертации выиграл бы от присутствия 1-2 авторских схем, иллюстрирующих представления о механизмах рекрутинга клеток и вкладе иммунного ответа в поддержание системного и локального воспаления.

В главе «Материалы и методы исследования» представлены данные, подробно характеризующие объект и методы исследования. Достаточно подробно описан дизайн исследования, с акцентом на оценку клинических параметров, позволившую сформировать группы пациентов по особенностям



течения инсульта. Избранные автором методы исследований современны и позволяют ответить на все поставленные в работе вопросы.

Глава «Результаты собственных исследований» содержит 5 подразделов, последовательно и логично описывающих полученные данные. Достоинством этой главы является присутствие резюмирующих положений в конце каждого раздела, что поддерживает общую логику и взаимосвязанность отдельных фрагментов работы.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор полно и грамотно интерпретирует полученные данные, демонстрирую свою способность к аналитической деятельности и критическому осмыслению результатов. Как и в случае с «Обзором литературы» считаю, что в этой главе уместны были бы 1-2 оригинальные схемы, подытоживающие основные находки и наглядно демонстрирующие предлагаемый автором алгоритм прогностической оценки.

Итоги работы подведены в разделе «Заключение», где автор подтверждает справедливость собственной научной гипотезы, опираясь на полученные результаты, завершая описание выводами. Несколько удивляет отсутствие раздела «Практические рекомендации», которые, несомненно, могут быть сделаны на основании новых и клинически важных данных о кандидатных прогностических маркерах.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации, замечаний по нему нет. В диссертации присутствуют единичные опечатки.

В целом, указанные замечания не умаляют общего сугубо положительного впечатления от работы, которая удачно сочетает в себе элементы фундаментального и клинического исследования с большим потенциалом к внедрению результатов.

Предлагаю автору следующие **вопросы в формате научной дискуссии** по проблематике исследования:

- 1) Насколько значим, по мнению автора, вклад иммунокомпетентных клеток периферической крови в поддержание и развитие нейровоспаления

при острой ишемии головного мозга и в восстановление ткани после повреждения, по сравнению с клетками микроглии и астроглии?

2) Какие механизмы рекрутинга иммунокомпетентных клеток доминируют на фоне острой ишемии головного мозга?

3) Какова функциональная взаимосвязь клеток периферической крови с микроглией? Отражают ли, по мнению автора, зарегистрированные им изменения в популяционном составе клеток периферической крови процессы поляризации микроглии и астроглии в ткани головного мозга?

4) Какие субпопуляции лимфоцитов являются наиболее перспективными с точки зрения таргетной коррекции иммунного ответа и системного воспаления в остром периоде инсульта? Сможет ли, по мнению автора, иммунокоррекция стать рутинным компонентом комплексной терапии инсульта, в том числе в восстановительном периоде?

### **Заключение**

Считаю, что диссертация Морозова Сергея Александровича «Лимфоидные и миелоидные клетки с иммунорегуляторной активностью у пациентов в остром периоде ишемического инсульта» полностью соответствует паспорту научной специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология» в части изучения иммунитета и его нарушений, в том числе при разработке новых методов терапии и диагностики заболеваний.

Диссертация Морозова Сергея Александровича «Лимфоидные и миелоидные клетки с иммунорегуляторной активностью у пациентов в остром периоде ишемического инсульта», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальной научной задачи – изучения иммунных механизмов воспаления при остром нарушении мозгового кровообращения и поиска прогностически значимых маркеров нарушений иммунного ответа.



По новизне, научной и практической ценности полученных результатов, перспективам их практического применения диссертация полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 21 апреля 2016 г. № 335, от 02 августа 2016 г. № 748, от 29 мая 2017 г. № 650, от 28 августа 2017 г. № 1024 и от 01 октября 2018 г. № 1168 с изменениями от 26 мая 2020 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор – Морозов Сергей Александрович - заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – «клиническая иммунология, аллергология»

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник и заведующий  
Лабораторией экспериментальной нейробиологии  
Отдела исследований мозга  
Федерального государственного бюджетного  
научного учреждения «Научный центр неврологии»,  
доктор медицинских наук  
(14.03.03 – патологическая физиология),  
профессор



Алла Борисовна Салмина

Россия, 125367, г. Москва,  
Волоколамское шоссе, д.80,  
Тел. +7(495)9170999; E-mail: allasalmina@mail.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора Салминой А.Б. удостоверяю:

Учёный секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр неврологии», старший научный сотрудник, кандидат медицинских наук

Анна Николаевна Евдокименко

« 01 » июня

2021 г.

