

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Давлеевой Марии Александровны «Механизмы посттравматической
регенерации спинного мозга мини-свиньи в условиях инфузии генетически-
модифицированного аутолейкоконцентрата», представленную на соискание
ученой степени кандидата медицинских наук по специальности
3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки) в Диссертационный
совет 21.2.012.02 при ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России

Актуальность темы исследования

Актуальность диссертационной работы Давлеевой М.А. не вызывает сомнений и обусловлена несколькими причинами: а) высокая медико-социальная значимость травматического повреждения спинного мозга, зачастую приводящего к стойкой инвалидизации; б) отсутствие целостного представления о сложном патогенезе повреждения, имеющего стадийный и прогрессирующий характер, включающего в себя комплекс событий, связанных с развитием механического повреждения, гипоксии/ишемии, эксайтотоксичности, нейровоспаления, дегенерации, что затрудняет разработку эффективных методов купирования патологического процесса на начальной стадии или восстановления регенеративного потенциала ткани в отсроченном периоде после травмы; в) очевидная потребность в разработке новых подходов к регенерации ткани спинного мозга с восстановлением утраченных связей между клетками и предупреждением развития вторичных повреждений; г) необходимость расширения спектра используемых моделей травматического повреждения спинного мозга *in vivo*, в том числе максимально приближенных к человеческому организму, для повышения эффективности доклинических и трансляционных исследований.

Диссертационное исследование М.А. Давлеевой выполнено с целью оценки влияния аутологичного лейкоконцентрата, клетки которого обогащены генами сосудисто-эндотелиального фактора роста (*veg165*), глиального нейротрофического фактора (*gdnf*) и нейрональной молекулы клеточной

адгезии (*ncam1*), на механизмы посттравматической регенерации спинного мозга в модели на мини-свиньях, что является актуальным и перспективным направлением в современной патофизиологии нервной системы и трансляционной медицине.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

В работе М.А. Давлеевой представлены оригинальные новые данные, подтверждающие научную гипотезу о возможности восстановления регенераторного потенциала ткани спинного мозга после травматического повреждения за счет увеличения экспрессии ключевых молекул, контролирующих нейрогенез и ангиогенез. Эти результаты существенно расширяют представления о патогенезе травмы спинного мозга, индукции и поддержании механизмов репарации, о вкладе гуморальных регуляторов пластичности ткани в восстановление.

Так, особого внимания заслуживают экспериментальные данные, подтверждающие эффективную миграцию клеток из аутологичного лейкоконцентрата в область повреждения, их биосинтетическую и регуляторную функции в контексте восстановления пулов клеток глиальной природы – астроглии, микроглии, олигодендроглии, что обеспечивает контроль механизмов нейровоспаления и способствует эффективной регенерации, манифестирующейся улучшением неврологического статуса животных (мини-свиньи) с контузионной травмой спинного мозга. Следует отметить, что эти результаты подтверждены и скрупулезной оценкой экспрессии маркеров повреждения ткани спинного мозга, характеризующих процессы синаптической пластичности, локального воспалительного ответа, клеточного стресса и апоптоза.

При анализе полученных данных автор опирается на гипотезу о том, что восстановление экспрессии пептидов, регулирующих процессы нейропластичности, за счет введения лейкоконцентрата, клетки которого экспрессируют гены, кодирующие соответствующие факторы роста или

адгезии, фактически, восстанавливает утраченный в результате травматического повреждения специфический паттерн межклеточных взаимодействий в составе нейроваскулярной единицы нервной ткани. Такой подход к решению задачи восстановления регенераторного потенциала спинного мозга является современным, оригинальным и перспективным для дальнейшего развития.

Таким образом, все полученные результаты соответствуют мировому уровню исследований и существенно расширяют представления о возможностях восстановления нейропластичности при повреждении спинного мозга. М.А. Давлеевой получены новые фундаментальные данные о патогенетически значимых механизмах действия комбинации рекомбинантных трофических факторов на посттравматическую регенерацию в центральной нервной системе, что открывает перспективы для разработки эффективных персонализированных генно-клеточных препаратов.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, сформулированных в диссертации

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и заключений, сформулированных М.А. Давлеевой, не вызывают сомнений и базируются на применении комплекса современных методов исследования, соответствующим поставленным цели и задачам. Экспериментальное исследование выполнено: а) с формулировкой оригинальной научной гипотезы; б) с соблюдением принципов контроля качества, этических норм, адекватной статистической обработки данных; в) с использованием широкого спектра методов и протоколов: экспериментальное моделирование травмы спинного мозга *in vivo*, оценка неврологического статуса, гистология и морфометрия, иммуногистохимия, молекулярно-генетические методы, методы клеточной биологии; г) с глубоким обсуждением полученных результатов на основе современных литературных данных. Обоснованность полученных

результатов дополнительно подтверждается оценкой экспрессионного профиля трансплантируемых клеток.

Подтверждением обоснованности и достоверности полученных данных является опубликование 12 работ (в том числе в высокорейтинговых научных журналах), включая 2 патента, а также, представление результатов на профильных научных конференциях национального и международного уровней.

В целом, диссертация М.А. Давлеевой содержит новые результаты, которые получены с использованием современных методов, корректно проанализированы и представлены научному сообществу.

Значимость выводов и рекомендаций для науки и практики

Теоретическая значимость выполненного исследования связана с получением новых данных, раскрывающих таргетные механизмы для поддержания регенераторного потенциала в поврежденной ткани спинного мозга (синаптическая пластичность, субпопуляционный состав глии, механизмы клеточной гибели и воспаления) при применении аутологичного лейкоконцентрата, клетки которого способны восстанавливать нарушенные при повреждении межклеточные взаимодействия, контролируемые VEGF, GDNF, NCAM1.

Практическая значимость выполненной работы связана с разработкой нового подхода к оценке эффективности оригинальных генно-клеточных препаратов с использованием модели *in vivo*, по физиологическим параметрам приближенной к человеческому организму.

Рекомендации по использованию результатов и выводов

Полученные результаты могут быть рекомендованы к применению в патофизиологии (при изучении клеточно-молекулярных механизмов повреждения ткани центральной нервной системы, разработке новых моделей

травмы спинного мозга, учитывающих аберрантные межклеточные взаимодействия), в трансляционной медицине и биоинженерии (при разработке новых генно-клеточных продуктов, в том числе персонализированных, для терапии повреждений центральной нервной системы), а также в высшем образовании в области медицины и биологии. Результаты работы уже внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО Казанский ГМУ Минздрава России. В целом, все указанные направления использования результатов диссертационной работы М.А. Давлеевой могут быть реализованы в образовательных учреждениях и научных центрах Российской Федерации.

Общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа М.А. Давлеевой изложена на 164 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, главу «Материал и методы», две главы собственных исследований, обсуждение результатов, заключение, выводы, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений и условных обозначений, список литературы и список иллюстративного материала. Работа проиллюстрирована 26 рисунками и 5 таблицами. Список литературы содержит 271 цитируемый источник, из которых значительную часть составляют публикации в международных рецензируемых базах данных за последние 5–10 лет, что свидетельствует о глубоком понимании автором современного состояния изучаемой проблемы.

Диссертация написана грамотным научным языком, отличается ясностью изложения, последовательностью аргументации и аккуратностью оформления.

Во введении диссертант убедительно обосновывает актуальность темы, четко формулирует цель и задачи исследования, раскрывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, резюмирует основные позиции методологии работы, формулирует положения, выносимые на защиту, оценивает личный вклад и приводит данные об апробации результатов.

Содержание главы «Литературный обзор» подтверждает уверенное владение автором современными данными по проблематике работы. В этом разделе диссертации достаточно детально проанализированы такие ключевые позиции, как этиология и патогенез травмы спинного мозга, методы терапии и моделирования этой патологии, факторы, определяющие выраженность повреждения и эффективность восстановления ткани, современные методы генной и клеточной терапии. Несомненным достоинством этого раздела является глубокий анализ клеточно-молекулярных механизмов повреждения и восстановления ткани центральной нервной системы, достоинств и ограничений различных терапевтических подходов.

Глава «Материал и методы» отличается тщательным описанием дизайна эксперимента. Автор подробно описывает протоколы предоперационной подготовки, моделирования контузионной травмы спинного мозга у мини-свиней, оценки послеоперационного периода, в том числе в контексте исследования неврологического статуса. Детально изложены оригинальные протоколы приготовления генно-клеточного препарата на основе аутологичного лейкоконцентрата, трансдукции клеток химерными аденовирусными векторами, а также комплекс гистологических, иммунофлуоресцентных и молекулярно-генетических методов исследования, методов статистической обработки данных.

В двух главах, описывающих результаты собственных исследований, логично, последовательно и детально представлена комплексная оценка патологических изменений в спинном мозге мини-свиней после контузионной травмы и результаты оценки эффективности внутривенного введения генно-клеточного препарата. Этот раздел работы отлично иллюстрирован и дает полное представление о качестве и объеме выполненных работ.

В главе «Обсуждение результатов» М.А. Давлесва грамотно суммирует полученные данные, сопоставляя их с результатами отечественных и зарубежных авторов, дает корректную патофизиологическую интерпретацию механизмов посттравматической регенерации в центральной нервной системе.

Завершается работа заключением, в котором подведены итоги исследования, и выводами, которые четко аргументированы, логично вытекают из полученных результатов и полностью соответствуют поставленным цели и задачам. В этом же разделе автор разместил резюмирующий рисунок, объясняющий некоторые механизмы патогенеза травмы спинного мозга, корригируемые за счет применения авторского метода восстановления нейропластичности. По результатам работы сформулированы 4 вывода.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертационного исследования Давлеевой М.А. отражает основные результаты работы, логичен и последователен.

Общие вопросы и замечания по работе

Диссертация М.А. Давлеевой производит позитивное и целостное впечатление, однако при знакомстве с работой возникли **следующие замечания и комментарии:**

1. Глава «Литературный обзор» не содержит рисунков, полагаю, что этот раздел диссертации существенно выиграл бы от наличия 2-3 рисунков интегративного характера по разным аспектам изучаемой проблемы, а также нескольких ключевых резюмирующих положений, в которых были бы изложены основные нерешенные вопросы.
2. В главе «Материал и методы» дизайн работы представлен на рисунке высокого качества, который был бы еще более информативным в случае дополнения его временной шкалой и перечнем маркерных молекул и механизмов, которые учитывались при выполнении исследования.
3. Удивляет отсутствие в выводах диссертации статистически значимых изменений в регистрируемых параметрах (численные значения), а также то, что автор не представляет практические рекомендации как результат выполненного исследования, несмотря на очевидную возможность их

формулирования.

4. Автореферат не содержит иллюстрации (микрофотографии, гистограммы), которые бы подтверждали ключевые выводы, представленные в тексте автореферата. Это несколько снижает информативность автореферата и не дает полного представления о качестве выполненных исследований, что, однако, имеет свое подтверждение в тексте диссертации.

Однако все указанные замечания не влияют на общее, сугубо положительное впечатление от диссертации. В порядке научной дискуссии хотелось бы задать автору **следующие вопросы:**

1. Как автор может интерпретировать уровень эффективности трансдукции лейкоцитов Ad5/F35-GFP (0,6%) в контексте последующего применения этого протокола для получения лейкоконцентрата с высокой экспрессией трофических факторов и миграционной способностью в зоне повреждения?
2. Чем автор объясняет тенденцию к более высокой эффективности экспрессии NCAM1 по сравнению с VEGF, GDNF в лейкоцитах крови?
3. Оценивал ли автор время жизни и интенсивность апоптоза лейкоцитов, экспрессирующих соответствующие факторы роста?
4. Какие наиболее перспективные направления дальнейших работ автор предполагает в развитие исследований, в частности, с учетом оценки возможных побочных эффектов трансплантации клеток?

Заключение

Диссертационная работа Давлеевой Марии Александровны «Механизмы посттравматической регенерации спинного мозга мини-свиньи в условиях инфузии генетически-модифицированного аутолейкоконцентрата», выполненная под научным руководством профессора Исламова Рустема Робертовича, является самостоятельной и законченной научной квалификационной работой, в которой содержится решение важной научной задачи патофизиологии – изучение клеточно-молекулярных механизмов

повреждения и восстановления в центральной нервной системе, экспериментальное обоснование эффективности инновационного персонализированного подхода к терапии травмы спинного мозга. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.3.3. Патологическая физиология, в частности, п. 2 (Изучение механизмов развития заболеваний, типовых патологических процессов и реакций организма на воздействие патогенных факторов, в том числе механизмов формирования патологических систем и нарушений информационного процесса, обуславливающих развитие заболеваний), п. 4 (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 процессов), п. 8 (Изучение защитных, компенсаторных и приспособительных реакций организма, развивающихся в ответ на действие повреждающих факторов различной природы и при развитии патологических процессов), п. 11 (Разработка новых путей этиотропной и патогенетической терапии с учетом взаимодействия лечебных мероприятий с защитно-приспособительными реакциями организма).

С учетом актуальности темы диссертации, степени обоснованности выводов и научных положений, их достоверности и научной новизны, теоретической и практической значимости исследования, диссертация М.А. Давлеевой «Механизмы посттравматической регенерации спинного мозга мини-свиньи в условиях инфузии генетически-модифицированного аутолейкоконцентрата» отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», в действующей редакции Постановления Правительства Российской Федерации №1382 от 16 октября 2024 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а автор - Мария Александровна Давлеева - заслуживает

присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник и заведующая
лабораторией нейробиологии и тканевой инженерии,
Института мозга Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Российский центр неврологии и нейронаук»,
доктор медицинских наук (3.3.3 – патологическая физиология),
профессор, член-корреспондент РАН  Алла Борисовна Салмина

Адрес места работы:

Россия, 125367, г. Москва, Волоколамское шоссе, д.80,
ФГБНУ «Российский центр неврологии и нейронаук»,
Институт мозга, лаборатория нейробиологии и тканевой инженерии,
Тел.: +7(495)9170999, e-mail: salmina@neurology.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора, члена-корреспондента РАН
Салминой А.Б. удостоверяю:

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

« 02 » сентября 2026



Дмитрий Владимирович Сергеев