

Отзыв

официального оппонента д.м.н., профессора А. Н. Трунова на диссертационную работу Повещенко Ольги Владимировны «Морфофункциональные характеристики субпопуляций мобилизованных из костного мозга мононуклеарных клеток крови при хронической сердечной недостаточности», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Актуальность темы

Актуальность исследований представленной диссертационной работы не вызывает сомнения и определяется рядом положений.

Во-первых, диссертационное исследование посвящено решению одной из значимых фундаментальных задач в клеточной биологии – изучению морфо/фенотипических и функциональных (пролиферативной и секреторной активности) свойств прогениторных клеток периферической крови, в том числе, в условиях их мобилизации путем введения гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, как наименее травматического способа получения стволовых клеток. Указанное имеет существенное значение для клеточной биологии, поскольку без знания и анализа этих аспектов развития прогениторных клеток невозможна дальнейшая разработка новых патогенетически обоснованных методов клеточной терапии, одного из быстроразвивающихся и приоритетных направлений современной медицины, в целом, и регенераторной медицины, в частности.

Во-вторых, несмотря на достижения современной медицины, хроническая сердечная недостаточность продолжает оставаться сложной медико-социальной проблемой, которая, во многом, определяет структуру инвалидности и смертности в современном мире. Известно, что результаты использования существующих терапевтических и хирургических методов лечения хронической сердечной недостаточности не всегда удовлетворяют практическое здравоохранение, а усилия ученых многих стран направлены на разработку новых высокотехнологичных методов лечения. Анализ научной литературы позволяет сделать заключение, что одним из перспективных направлений в этой области является клеточная кардиомиопластика с использованием введения в миокард мультипотентных клеток предшественников. Немногочисленные научные публикации свидетельствуют об

эффективности такого рода терапии, но проблема требует дальнейшего углубленного изучения.

Суммируя вышеизложенное, можно заключить, что цель и задачи представленной диссертационной работы являются актуальными и значимыми для науки и практического здравоохранения.

Научная новизна и практическая значимость

В проведенном исследовании автором получены данные, определяющие научную новизну и практическую значимость диссертационной работы.

Автором диссертационного исследования установлена эффективность мобилизации эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) из костного мозга в периферическую кровь у пациентов с тяжелой формой хронической сердечной недостаточности путем введения G-CSF.

Автором диссертационной работы впервые исследован фенотип и функциональная активность ЭПК, мобилизованных введением G-CSF пациентам с хронической сердечной недостаточностью (ХСН), и показано, что они представляют находящуюся на разных этапах дифференцировки гетерогенную популяцию клеток, о чем свидетельствует типирование клеток с фенотипом CD34+, CD34+/CD133+, CD34+/VEGFR2+, CD133+/CD34-, CD34+/CD31+, VEGFR2+/CD34-, CD31+/CD34-, CD14+/VEGFR2+, VEGFR2+/CD14- в периферической крови.

Проведенные автором исследования убедительно показали, что выделенные из периферической крови пациентов с ХСН мононуклеарные клетки, обогащенные ЭПК, обладают высокой пролиферативной, миграционной и секреторной активностью, что подтверждается увеличением пролиферативного потенциала мононуклеаров в ответ на митогенные и цитокиновые стимулы (Кон А, Еро, G-CSF), увеличением количества колониобразующих единиц и экспрессии рецептора хоуминга (CXCR4 на CD34+ ЭПК), увеличением секреции цитокинов, в том числе, с проангиогенной активностью (IL-18, Еро и VEGF).

Впервые установлено влияние условий и сроков культивирования на морфофункциональные свойства изучаемых клеток. Показано, что клетки, культивируемые в ранние сроки, имеют удлиненную форму и слабо пролиферируют, а увеличение сроков культивирования приводит к образованию

веретенообразными клетками кластеров и первичных сосудистых тубулярных структур, в тоже время «ранние» эндотелиальные прогениторные клетки секретируют более высокий уровень ряда цитокинов (IL-10, IL-18, IL-8, EPO, VEGF, TNF- α).

Представленные в исследовании данные позволили автору сделать предположение о возможности использования аутологичных мононуклеарных клеток, обогащенных эндотелиальными прогениторными клетками, для стимуляции ангиогенеза и регенерации ишемизированного миокарда у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, что было подтверждено в клинической части исследования.

Результаты исследования используются в практической деятельности Научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина при лечении пациентов с хронической сердечной недостаточностью, внедрены в учебный процесс кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии ФПК и ППВ Новосибирского государственного медицинского университета.

Достоверность полученных результатов

Достоверность полученных результатов и выводов основывается на логичности построения и тщательной проработке всех этапов исследования, использовании высокоинформативных методов исследований, анализе и сопоставлении полученных данных, корректной статистической обработке.

Полученные материалы были многократно обсуждены на всероссийских научных форумах и представлены в печатных работах (41 печатная работа по теме диссертации, в том числе, в достаточном количестве в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации материалов, используемых в диссертационных работах, а также имеющих импакт-фактор больше 0,3).

Материал, представленный в диссертации, получен и проанализирован автором лично.

Все выше изложенное позволяет считать, что представленные автором результаты достоверны, а выводы вполне обоснованы и соответствуют полученным данным.

Работа написана в классическом стиле, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы. Работа изложена на 232 страницах печатного текста, хорошо иллюстрирована таблицами и рисунками. Список литературы содержит 386 литературных источников, из них 353 зарубежных.

Введение отвечает предъявляемым требованиям, содержит все необходимые разделы: кратко обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, представлены положения, выносимые на защиту.

Аналитический обзор литературы изложен достаточно полно и охватывает современные аспекты изучаемой проблемы. В обзоре представлены точки зрения и суждения различных авторов, грамотно используется современная литература, что свидетельствует об эрудиции автора и его способности к аналитической работе. Знание литературы позволило автору сформулировать цель и задачи собственного диссертационного исследования.

В главе «методы исследования» автор описывает группы обследуемых лиц, а также представляет методы исследования. Выбор методов адекватен для решения поставленных цели и задач диссертационного исследования.

Определив цель диссертационного исследования, в главах результатов собственных исследований автор последовательно описывает полученные в процессе работы данные, проводит их сравнительный анализ и сопоставления, делает обоснованные заключения.

В главе «обсуждение полученных результатов» на хорошем уровне проведен анализ полученных данных, что еще раз подтверждает эрудицию автора.

Выводы основываются на фактически полученном автором материале и отражают суть проведенного диссертационного исследования.

Содержание автореферата соответствует диссертации, отражает основные результаты, необходимые для суждения об обоснованности выводов.

Работа соответствует паспорту специальности 03.03.04 Клеточная биология, цитология, гистология в разделе:

- Изучение закономерностей дифференцировки клеток и тканей, их физиологической регенерации и регуляции этих процессов, а также дифференцировки и жизнедеятельности недифференцированных клеток.

- Молекулярные, иммунологические и физиологические аспекты изучения клеток многоклеточных, малоклеточных и одноклеточных организмов в норме и патологии.

В качестве замечания можно отметить, что пункт 3, 4 и 5 раздела «практические рекомендации» формально не являются таковыми, однако данное замечание не является значимым.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе нет.

Хотелось бы задать автору ряд **вопросов**.

1. В качестве источника стволовых клеток использовалась периферическая кровь после фармакологической мобилизации клеток костного мозга гранулоцитарным колониестимулирующим фактором. Чем был обоснован выбор данного источника?

2. Какова выживаемость пациентов, которым проводилась клеточная терапия, и какие показатели клинической эффективности еще оценивались?

3. Вы исследовали уровень цитокинов в кондиционной среде культивирования клеток, которые могут обладать проангиогенной активностью. Какие еще биологически активные вещества могут продуцироваться клетками?

Заключение

Таким образом, диссертационное исследование Повещенко Ольги Владимировны «Морфофункциональные характеристики субпопуляций мобилизованных из костного мозга мононуклеарных клеток крови при хронической сердечной недостаточности», выполненное при научном консультировании академика РАН В. И. Коненкова, является законченной самостоятельной научно-квалификационной работой, проведенной на высоком научно-методическом уровне, в которой получен фактический материал и содержится решение важной и актуальной для клеточной биологии, цитологии, гистологии и патологической физиологии проблемы - изучены морфофункциональные свойства прогениторных клеток периферической крови, мобилизованных введением G-CSF и их влияние на функциональное состояние мононуклеарных клеток периферической крови лиц

с хронической сердечной недостаточностью. Практическая значимость работы заключается в разработке новых фундаментальных подходов, способных лечь в основу создания патогенетически обоснованных методов лечения в комплексной терапии хронической сердечной недостаточности.

Диссертационное исследование по актуальности, методическому уровню, значимости полученных результатов и выводов полностью отвечает требованиям Положения о присуждении ученых степеней (утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Руководитель

лаборатории иммунологии репродукции Федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук
доктор медицинских наук (патологическая физиология, аллергология и иммунология), профессор

А. Н. Трунов

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2.

+79139100316

Trunov1963@yandex.ru

