

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора медицинских наук, профессора Хирманова Владимира Николаевича на диссертацию Карпова Андрея Александровича «Влияние мезенхимных стволовых клеток на ремоделирование миокарда после ишемического повреждения при их интрамиокардиальной трансплантации», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология; 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность исследования

Острая ишемия вызывает в сердце апоптоз и некроз клеток (инфаркт миокарда, ИМ), с последующим их замещением фиброзной тканью. Этот процесс сопровождается анатомическим ремоделированием сердца, нарушением его функций и формированием хронической сердечной недостаточности. Современные фармакологические и хирургические методы реперфузионной терапии эффективны в предотвращении ишемического некроза, но лишь в узком интервале времени после возникновения ишемического повреждения.

Клеточная терапия - развивающаяся альтернативная терапевтическая стратегия, нацеленная на восстановление поврежденного миокарда, предотвращение ремоделирования миокарда, функциональных дефектов и сердечной недостаточности. В экспериментальных и клинических исследованиях предпринимаются попытки использования разного рода стволовых клеток и клеток предшественниц для достижения подобных целей. Мезенхимные стволовые клетки (МСК) являются одним из наиболее перспективных средств клеточной терапии, так как в ряде доклинических исследований показана эффективность. Однако положительный эффект МСК ограничен их слабой выживаемостью и сильной способностью к миграции из зоны имплантации. Кроме того, остается неясным, что же является основным лечебным эффектом МСК. Раскрытие

механизма действия, возможно, позволит целенаправленно модифицировать МСК для достижения максимальной терапевтической результативности.

Учитывая данные обстоятельства, диссертационное исследование А.А. Карпова целью которого было определить воздействие МСК из разных источников на процесс постинфарктного ремоделирования миокарда и оценить вклад секретируемых стволовыми клетками паракринных факторов в реализацию кардиорепаративного действия МСК для повышения эффективности клеточной терапии ишемической болезни сердца является актуальной научной работой, отражающей современные тенденции в разработке терапевтических подходов в лечении сердечно-сосудистых заболеваний.

Оценка методов, материала и дизайна исследования

Для решения поставленной цели был последовательно решен ряд задач:

- сравнить воздействие интрамиокардиальной трансплантации МСК из костного мозга и жировой ткани на ремоделирование сердца после ишемического-реперфузионного повреждения,
- изучить влияние МСК из костного мозга на морфофункциональные параметры сердца при постинфарктном ремоделировании,
- разработать метод погружения МСК в полупроницаемые микрокапсулы, причем обеспечить поддержание заданной скорости биodeградации и сохранить оптимального состояние самих МСК,
- изучить вклад паракринных факторов в процесс постинфарктного ремоделирования миокарда после трансплантации стволовых клеток с помощью методики микроинкапсулирования клеток,
- исследовать аритмогенную активность нативных и инкапсулированных МСК при их интрамиокардиальной трансплантации.

В ходе проведенной работы был использован широкий спектр современных методов исследования, таких как моделирование ишемического и ишемического-реперфузионного повреждения миокарда в хроническом эксперименте у крыс, перфузия изолированного сердца по Лангендорфу, эхокардиографическое исследование в динамике, телеметрическая регистрация ритма сердца, микроинкапсулирование стволовых клеток в капсулы из альгината натрия, иммуноферментный анализ содержания паракринных факторов в культуральной среде, гистологическое исследование сердца, конфокальная микроскопия.

Структура и содержание работы, ее научная и практическая ценность

Работа оформлена в традиционном стиле и соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к диссертационным работам. Исследование представлено на 126 листах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение результатов исследования и список литературы, состоящий из 264 источников. В заключении представлены выводы, полученные в ходе исследования и сформулированы практические рекомендации. Текстовая часть диссертационного исследования дополнена 13 таблицами и 16 рисунками.

Содержание работы точно соответствует двум специальностям: «кардиология» и «патологическая физиология».

В разделе "Введение" сформулирована цель диссертационного исследования, конкретизированы необходимые для его реализации задачи. В полной мере отражена актуальность и степень разработанности исследуемой темы. В соответствии с необходимыми требованиями во введении представлены основные положения, выносимые на защиту и практические рекомендации, полученные в ходе исследования.

В первой главе дан обзор литературы, в котором собрана основная информация о свойствах, источниках, возможных механизмах действия и эффектах МСК. Кроме того, представлены данные о возможных путях модификации стволовых клеток.

Во второй главе дано описание методов, использованных в ходе работы. Детально описана технологии работы с клеточными культурами, микроинкапсулирования МСК, а также экспериментов *in vivo*.

В третьей главе представлены результаты собственных исследований. Глава разделена на пять частей, каждая из которых соответствует результатам определенного эксперимента. В первой части охарактеризованы культуры МСК из костного мозга и жировой ткани. Вторая часть содержит результаты сравнения эффектов интрамиокардиальной трансплантации МСК разного происхождения после ишемического-реперфузионного повреждения миокарда. В третьей части обоснован оптимальный протокол микроинкапсулирования МСК в полупроницаемую мембрану. В четвертой части произведена оценка эффектов

микроинкапсулированных клеток на процесс постинфарктного ремоделирования сердца. В пятой части проанализирована аритмогенная безопасность применения нативных и микроинкапсулированных мезенхимных стволовых клеток.

Четвертая глава посвящена обсуждению результатов и сопоставлению анализируемых данных с литературными источниками. Выводы и практические рекомендации соответствуют полученным результатам, поставленной цели и задачам работы.

По теме диссертации опубликовано 10 публикаций из них 7 статей, в том числе 4 в изданиях перечня ВАК, 2 в рецензируемых международных журналах.

Публикации полностью соответствуют диссертационной работе с отражением всех основных результатов

Автореферат оформлен в соответствии с необходимыми требованиями и отражает содержание диссертационного исследования Карпова А.А.

В целом рецензируемая диссертация исследование является новаторским и чрезвычайно плодотворным исследованием, принесшим значительную пользу для теории и практики медицины.

Научная новизна диссертационной работы

Исследование Карпова А.А. посвящено изучению механизмов действия МСК, оценке роли паракринных факторов в положительном эффекте стволовых клеток, а также поиску оптимального источника МСК для клеточной терапии ИМ.

В ходе исследований было показано, что интрамиокардиальная трансплантация МСК из костного мозга характеризовалась более выраженным защитным воздействием на миокард по сравнению с применением МСК из жировой ткани. Была выявлена способность МСК из костного мозга уменьшать размер рубца и увеличивать систолическую функцию левого желудочка. Был разработан протокол микроинкапсулирования МСК в полупроницаемые микрокапсулы из альгината натрия. Обоснована ведущая роль секретируемых МСК паракринных факторов в механизме реализации благоприятных эффектов клеточной терапии на миокард путем сравнения эффектов нативных и микроинкапсулированных стволовых клеток. Продемонстрирована аритмогенная безопасность применения нативных и микроинкапсулированных МСК при их интрамиокардиальной трансплантации.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертационной работе

Достоверность полученных результатов подтверждена значительным объемом экспериментального материала, использованием *in vitro* и *in vivo* адекватных методик оценки. Размер исследуемых групп является достаточным для получения статистически значимых результатов. Проведен подробный анализ полученных данных с привлечением литературы. Адекватность статистического аппарата также не вызывает сомнений.

Замечания и вопросы к диссертанту

Принципиальных замечаний по диссертации нет. В порядке научной дискуссии, порождаемой интересным и полезным исследованием, хотелось бы задать его автору следующие вопросы:

1. Что понимается под «инфаркт-лимитирующим действием», если оно (трансплантация МСК) выполняется «на седьмой день после ишемически-реперфузионного повреждения миокарда» (первый вывод)? Иными словами, обратим ли (и каким образом) инфаркт через неделю после его возникновения?

2. В чем уверенность, что описанные в работе паракринные эффекты в миокарде, вызваны именно продукцией пересаженных мезенхимальных стволовых клеток, а не, наоборот, эти самые клетки возбуждают в миокарде, в который они имплантированы, паракринную продукцию?

3. Что конкретного известно сегодня о паракринных факторах мезенхимальных стволовых клеток и мишенях их воздействия в миокарде?

Заключение

Диссертационное исследование на соискание ученой степени кандидата наук, выполненное Карповым А.А., является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных им исследований решена актуальная задача для кардиологии и патологической физиологии - определены эффекты мезенхимных стволовых клеток, полученных из разных источников на процесс постинфарктного ремоделирования миокарда и оценен вклад секретлируемых стволовыми клетками паракринных факторов в реализацию кардиорепаративного

действия МСК для повышения эффективности клеточной терапии ишемической болезни сердца.

Работа полностью соответствует требованиям п. 9 "Положения о присуждении ученых степеней" от 24.09.2013 г №842, а соискатель заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям: 14.01.05 – кардиология; 14.03.03 - патологическая физиология.

Заведующий отделом сердечно-сосудистой патологии ФГБУ "Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России доктор медицинских наук, профессор

В.Н. Хирманов

Федеральное государственное бюджетное учреждение "Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России
197345, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, д. 54.
тел. 8(812) 339-39-39
e-mail:arcerm.spb.ru

Подпись доктора медицинских наук, профессора Хираманова Владимира Николаевича заверяю:



30.05.18

Наталья Евгеньевна Стегалева
директор ФГБУ "Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова" МЧС России
Стегалева Е.А.