ОТЗЫВ

официального оппонента, руководителя лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики Томского национального исследовательского медицинского центра Российской академии наук, доктора медицинских наук, профессора, Афанасьева Сергея Александровича на диссертационную работу Кочегуры Татьяны Николаевны "Молекулярные и клеточные механизмы влияния сопутствующего сахарного диабета 2 типа на течение сердечной недостаточности" на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.03 - патологическая физиология и 03.01.04 – биохимия (медицинские науки), представленной для защиты в диссертационный совет Д 208.038.02, действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063, Российская Федерация, Краснодарский Край, г. Краснодар, ул. Седина,4, тел.: 8(861) 262 - 73 - 75; www.ksma.ru

Актуальность темы диссертации

Коморбидность является существенным фактором, определяющим течение многих хронических патологий. Сопряженное развитие ИБС и СД2 стало практически повседневной практикой кардиологических стационаров. В связи с этим, выявление и исследование детерминант, посредством которых сахарный диабет 2 типа (СД2) вовлечен в развитие неблагоприятного прогноза ишемической сердечной недостаточности, а также разработка теоретической базы для предупреждения и лечения уже выявленных осложнений, несомненно, являются актуальными. Значительный прогресс здесь можно ожидать с внедрением подходов персонализированной медицины и контролируемой стимуляцией регенеративных и репаративных процессов.

Хорошо известно, что в основе большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы лежит нарушение структуры и функции эндотелия. Именно поэтому, эндотелиальная дисфункция является одним из ключевых независимых факторов риска практически всех сердечно-сосудистых патологий. Показано, что интактный эндотелий

обладает преимущественно антиагрегантным и антикоагулянтным потенциалом, а также вазодилатирующим и антимитогенным свойством. Однако, в результате сложных модификаций, инициированных стрессорными факторами, эндотелиальные клетки начинают способствовать гемокоагуляции, тромбообразованию и ангиоспазму. В случае сочетанного развития хронической сердечной недостаточности и СД2 проблемы многократно возрастают. В этих условиях, понимание процессов, определяющих формирование эндотелиальной дисфункции на клеточном уровне, крайне важно. Существует достаточно высокая вероятность, что изучение обновления эндотелия и пролиферации других элементов сосудистой стенки позволит понять механизмы прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний на фоне СД2. Правомерность таких ожиданий подтверждается тем, что уже сейчас одним из альтернативных подходов к лечению заболеваний ишемической природы является терапевтический ангиогенез. Этот подход основан на введении в ишемизированные ткани генетических конструкций с генами факторов роста или стволовых/прогениторных клеток. Перспективным инструментом для терапевтического ангиогенеза считаются мезенхимальные стволовые клетки костного мозга и жировой ткани. Эти клетки способны стимулировать рост кровеносных сосудов, в том числе, благодаря секреции ангиогенных факторов роста. Нужно отметить, что ряд клинических исследований по клеточной терапии заболеваний ишемического генеза уже предполагает использование аутологичных мезенхимальных стволовых клеток. Однако, влияние и ИБС, и сахарного диабета на свойства этих клеток практически не изучены. Данное обстоятельство еще раз подтверждает актуальность исследования, проведенного Татьяной Николаевной.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В диссертационной работе представлены новые и оригинальные результаты. Прежде всего, нужно отметить тот факт, что автору удалось раскрыть клеточные детерминанты/механизмы, посредством которых гипергликемия и гиперлипидемия как неотъемлемые факторы СД2 модифицируют состояние клеточного звена системы регенерации. До настоящего времени считалось, что гипергликемия при сахарном диабете нарушает функциональные характеристики зрелых, т.е. дифференцированных клеток (в частности, эндотелиальных и гладкомышечных клеток). Однако, автором впервые обнаружено влияние гипергликемии на стволовые/прогениторные клетки. Это

дает основание по новому оценивать возможности эндогенных механизмов репарации/регенерации сосудов у пациентов с СД2. Так, в рамках данного исследования убедительно продемонстрировано, что моделирование гипергликемии in vitro подавляет ангиогенные свойства МСК, которые играют важную роль в формировании и сохранении сосудистой сети и в норме, и при ремоделировании тканей. На клиническом материале, а именно на МСК пациентов, имеющих моновариантное развитие ИБС, и пациентов, имеющих ИБС, сопряженную с СД2, показано, что в основе ухудшения ангиогенного (регенеративного) потенциала МСК лежит возникающий дисбаланс ангиогенных/антиангиогенных факторов роста. Автором установлено, что одним из таких антиангиогенных факторов может выступать повышение секреции и экспрессии ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1). Подавление его активности с помощью блокирующих антител позволяет восстанавливать ангиогенную способность суммарных продуктов секреции МСК к капиллярогенезу in vitro.

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

В диссертации использованы современные клинические, биохимические, клеточные и молекулярно-биологические методы исследования. Эксперименты на клеточных культурах проведены в достаточном количестве последовательных повторений, что позволяет говорить о высокой статистической значимости получаемых результатов.

Обработка количественных и качественных показателей (включая клинико-демографическую характеристику групп исследования) проведена с применением адекватных и современных методов статистического анализа, в том числе логистической регрессии.

Основные результаты исследования неоднократно докладывались на научных конференциях и хорошо представлены в профильных изданиях. По материалу диссертации опубликовано 35 печатных работ, из них 20 в изданиях, рекомендованных ВАК. Оригинальность предпринятого исследования и полученных результатов подтверждается 5 патентами на изобретение.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Научно-практическая значимость проведённого исследования представляется

достаточно высокой, так как удалось раскрыть важные механизмы влияния СД2 на течение и прогноз сердечной недостаточности у больных с ИБС, представляющей актуальную проблему для персонифицированной медицины и кардиологии в целом. Полученные результаты, целесообразно использовать в регенеративной медицине. В частности, их следует учитывать при разработке протоколов аутологичной клеточной терапии ишемических заболеваний с сопутствующими нарушениями углеводного обмена и СД2.

Содержание работы, ее завершенность и оформление

Название, выбранное автором для диссертационной работы, соответствует цели, задачам и отражает изложенный в ней материал. Диссертационная работа Татьяны Николаевны подготовлена в соответствии с требованиями ВАК, содержит введение, обзор литературы по изучаемому вопросу (глава 1), описания материалов и методов (глава 2), изложение результатов работы и их обсуждение (главы с 3 по 8). В заключительной части автором приведены выводы, список сокращений и перечень использованных литературных источников. Диссертация изложена на 308 страницах компьютерной верстки, проиллюстрирована 41 рисунком и 41 таблицей. Библиография включает 416 источников, из них 366 – англоязычных. Диссертация имеет «Приложение» содержащее патенты, полученные по результатам исследования и акты внедрения.

В разделе «Введение» приведены основные положения, касающиеся актуальности тематики исследования. Изложены существующие представления о молекулярных и клеточных факторах, вовлеченных в усугубление хронической сердечной недостаточности при сопутствующем СД2. Сформулированы цель и задачи исследования, а также определены новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Здесь же представлены положения, выносимые на защиту, и отражено личное участие автора в выполнении работы, заключающееся в изучении научной литературы, планировании и организации исследований, проведении всех экспериментов in vitro, анализе экспериментальных и клинических результатов, а также формулировке научных положений и выводов, написании статей и представлении результатов работы на научных конференциях.

Достаточно объемный «Обзор литературы» охватывает современное состояние проблемы хронической сердечной недостаточности ишемического генеза при ее

сочетании с сахарным диабетом, гипергликемией и ожирением. Отдельные разделы этой главы посвящены молекулярным механизмам, вовлечённым в патогенез хронической сердечной недостаточности. В них автор подробно излагает существующие представления о роли натрийуретических пептидов и системы эндотелина в патогенезе хронической сердечной недостаточности с сопутствующим СД2; о роли адипоцитокинов и ангиогенных факторов в патогенезе хронической сердечной недостаточности. Автор представляет литературные данные о клеточных механизмах в патогенезе хронической сердечной недостаточности и роли метаболических факторов риска. Отдельно останавливается на понятии «эндотелиальная дисфункция» и вовлеченности стволовых и прогениторных клеток в её формирование.

В заключении обзора автор определяет наиболее актуальные вопросы по рассматриваемой проблеме, формулирует цель и задачи своего исследования.

Глава «Материалы и методы» содержит критерии включения/не включения пациентов и относительно здоровых добровольцев в исследование. Диссертационное исследование включает три клинических протокола, в том числе, проспективное наблюдение, а также подробное описание всех использованных клинических, биохимических, молекулярных и клеточных методов исследования. Характер изложения обеспечивает возможность воспроизведения экспериментальной и статистической части исследования. Адекватность, современность и достаточность использованных в работе методов не вызывают сомнений в возможности получить объективные данные и сделать обоснованные выводы.

В главах с 3 по 8 представлены результаты собственных исследований и их обсуждение. Объем проведённых исследований и многообразие использованных методов, включающих клинический материал, биохимический анализ и клеточные модели in vitro, позволяют отнести выполненное исследование к клинико-экспериментальной работе. Результаты молекулярно-клеточных исследований представлены в 3-й и 4-й главах. Здесь, на модели гипергликемии и гиперлипидемии in vitro продемонстрировано снижение ангиогенных свойств и жизнеспособности мезенхимальных стволовых клеток. Оценка экспрессионного профиля генов этих клеток, культивируемых в условиях нормогликемии и гипергликемии, позволила показать, что негативное влияние повышенной концентрации глюкозы реализуется

через изменение экспрессии и секреции целого комплекса факторов роста и цитокинов, участвующих в регуляции ангиогенеза. В следующих главах автор ищет сопряженность обнаруженных механизмов с клиническими и биохимическими проявлениями в условиях реальной патологии. Оценивается клиническое и прогностическое значение циркулирующих ангиогенных факторов роста и прогениторных клеток у больных с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза и сопутствующим СД2.

Каждая из этих пяти глав завершается «Резюме», в которых приводится подробный анализ полученных данных и делается их сопоставление с литературой и существующими представлениями в этой области.

В «Заключении» Татьяна Николаевна подводит итог своего многопланового исследования, кратко обобщают результаты обсуждения полученных данных, а также подчеркивает их научно-практическую значимость.

Завершается диссертация 8 выводами и 5 практическими рекомендациями. Все они логично связаны и обоснованы фактическим материалом.

Содержание автореферата и публикаций автора соответствует данным, приведенным в диссертации, которая по тематике и содержанию соответствует специальностям: 14.03.03 - патологическая физиология и 03.01.04 - биохимия (медицинские науки).

Подтверждение опубликования результатов диссертации в научных изданиях

Опубликованные автором статьи отражают основные положения диссертации (по теме диссертационного исследования опубликовано 35 статей, в том числе 5 патентов на изобретение). Актуальность исследования подтверждается достаточными показателями цитируемости публикаций в системах Российского индекса научного цитирования, Web of Science и Scopus; индекс Хирша Т.Н. Кочегура - 5.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации в полной мере отражает содержание работы и оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ.

Замечания по диссертационной работе

При знакомстве с диссертацией я обнаружил ряд досадных опечаток, не полное соответствие списка сокращений реально используемым аббревиатурам и не всегда удачное оформление таблиц, практические рекомендации должны быть более конкретными, однако всё это не умаляет позитивного впечатления от работы в целом.

У меня не возникло принципиальных возражений по сути проведенного исследования, но есть ряд вопросов уточняющего характера:

1. Какие клетки культивировали в условиях экспериментальной гипергликемии и при выполнении раневого теста (клетки здоровых добровольцев или больных)? Влияет ли сахарный диабет на эффект моделирования гипергликемии?

2. Насколько полученные в работе результаты модифицируют положение - мезенхимальные клетки жировой ткани являются перспективными для аутологичной клеточной терапии при сердечной недостаточности ишемического генеза, в том числе сопряженной с сахарным диабетом?

3. Почему МСК ЖТ от пациентов пролиферируют интенсивнее, чем от здоровых добровольцев? Как этот результат соотносится с тем, что наибольшее значение циркулирующих прогениторных клеток получено у здоровых добровольцев? Представлены ли в циркулирующих прогениторных клетках стволовые клетки из жировой ткани?

Заключение

Диссертационная работа Кочегуры Татьяны Николаевны "Молекулярные и клеточные механизмы влияния сопутствующего сахарного диабета 2-го типа на течение сердечной недостаточности", представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является самостоятельным завершенным научно-квалификационным исследованием, вносящим крупный вклад в решение фундаментальной проблемы современной медицины, связанной с регуляцией регенеративных процессов, в том числе в сердечно-сосудистой системе. Результаты диссертационного исследования имеют большое медико-социальное значение. В работе раскрыты новые механизмы нарушения этих процессов под влиянием сахарного диабета 2-го типа. Они вносят значительный вклад в понимание патогенеза повреждения сосудов при сопряженном развитии сердечной недостаточности

ишемического генеза и сахарного диабета 2-го типа, определяют нарушение свойств стволовых и прогениторных клеток сосудов как существенный факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, и как перспективную мишень для терапевтических воздействий у данной категории пациентов.

По своей актуальности, методам и объему выполненных исследований, научному содержанию, оригинальности и новизне, достоверности и значимости результатов диссертационная работа Кочегуры Татьяны Николаевны соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.03. – патологическая физиология и 03.01.04 – биохимия (медицинские науки).

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,
руководитель лаборатории
молекулярно-клеточной патологии и
генодиагностики Научно-
исследовательского института
кардиологии Федерального
государственного бюджетного
научного учреждения
«Томский национальный
исследовательский медицинский
центр Российской академии наук»
(Томский НИМЦ)

подпись

Афанасьев
Сергей Александрович

Ул. Киевская, д. 111а, Томск, 634012,
тел./ факс (3822) 55-50-57/ 55-83-67,
www.cardio-tomsk.ru e-mail:
cardio@cardio-tomsk.ru

Подпись Афанасьева С.А. заверяю.

Ученый секретарь Томского НИМЦ
кандидат биологических наук
Ирина Юрьевна Хитринская

подпись

20.02.2018г.
дата

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте диссертации Кочегуры Татьяны Николаевны на тему "Молекулярные и клеточные механизмы влияния сопутствующего сахарного диабета 2 типа на течение сердечной недостаточности" на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.03 - патологическая физиология и 03.01.04 – биохимия, представленной для защиты в диссертационный совет Д208.038.01 (Д208.038.02), действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063 г. Краснодар, улица Седина, дом 4, тел. (861)-262-73-75, адрес электронной почты: corpus@ksma.kubannet.ru; адрес официального сайта в сети «Интернет»: http://www.ksma.ru)

№	**Фамилия Имя Отчество** рецензента	**Год рождения, гражданство**	**Место основной работы** (название организации, ведомство, город, занимаемая должность)	**Учёная степень** (шифр специальности, по которой присуждена учёная степень в соответствии с действующей Номенклатурой специальностей научных работников, № свидетельства)	**Учёное звание**	**Шифр специальности (отрасли науки) в диссертационном совете** (с указанием отраслей; соответствующего периода; отраслей и сфер деятельности)
1	2	3	4	5	6	7
1	Афанасьев Сергей Александрович	1957г., гражданин России	Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской Академии Наук; руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики НИИ кардиологии Томского НИМЦ	доктор медицинских наук, 14.03.03 - патологическая физиология	профессор	14.03.03 – патологическая физиология (медицинские науки)
Данные о научной деятельности по заявленной научной специальности за 5 лет, предшествующих дате подачи ходатайств организации:						

а) Перечень научных публикаций в издания, индексируемых в международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science и Scopus, а также в специализированных профессиональных базах данных Astrophysics, PubMed, Mathematics, Chemical Abstracts, Springer, Agris, GeoRef, MathSciNet, BioOne, Compendex, CiteSeerX.	1. Differences in the force–interval relationship of isolated human myocardium with chronic coronary artery disease with and without type 2 diabetes mellitus and the role of sarcoplasmic reticulum Ca2+-ATPase / S.A. Afanasiev, D.S Kondratieva, A.F. Kanev, B.N. Kozlov, S.V. Popov // Human Physiology. – 2017. – vol. 43. №1. – 54-60. 2. Coupling of the functional stability of rat myocardium and activity of lipid peroxidation in combined development of postinfarction remodeling and diabetes mellitus / S.A. Afanasiev, D.S. Kondratieva, T.Y. Rebrova, R.E. Batalov, S.V. Popov // J Diabetes Res. – 2016. – № 2548689. doi: 10.1155/2016/2548689 3. Comparative Analysis of Changes of Myocardial Angiogenesis and Energy Metabolism in Postinfarction and Diabetic Damage of Rat Heart / S.A. Afanasiev, M.V. Egorova, D.S. Kondratyeva, R.E. Batalov, S.V. Popov // J Diabetes Res. – 2014. – vol. 2014. №827896. doi: 10.1155/2014/827896.4. 4. Influence of Fatty Acids on Oxygen Consumption in Isolated Cardiomyocytes of Rats with Ischemic or Diabetic Heart Disease / S.A. Afanasiev, M.V. Egorova, T.V. Kutsykova, S.V. Popov // Vestn Ross Akad Med Nauk. – 2016(2) – 97-101.
б) Перечень научных публикаций в журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук, с указанием импакт-фактора журнала на основании данных библиографической базы данных научных публикаций российских учёных - Российскому индексу научного цитирования (РИНЦ). (Указать выходные данные)	1. Связь полиморфизма Т-786С гена эндотелиальной NO-синтазы 3-го типа с функциональным состоянием миокарда у больных ИБС на фоне сахарного диабета 2 типа / Э.Ф. Муслимова, Т.Ю. Реброва, Т.Н. Сергиенко, С.А. Афанасьев, А.Н. Репин // Генетика. 2017. Т. 53. № 6. С. 756-760. 2. Состояние перекисного окисления липидов и уровень свободных жирных кислот у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при проведении инсулинотерапии и интенсивного гликемического контроля в остром периоде инфаркта миокарда / А.И. Федотова, И.В. Максимов, Т.Ю. Реброва, С.А. Афанасьев, В.А. Марков // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2015. –Т. 14. № 2. – С. 25-30. (импакт-фактор – 1,130) 3. Влияние жирных кислот на поглощение кислорода изолированными кардиомиоцитами крыс с ишемическим или диабетическим поражением сердца / С.А. Афанасьев, М.В. Егорова, Т.В. Куцыкова, С.В. Попов // Вестник Российской академии медицинских наук.– 2016. –Т. 71. № 2. –С. 97-101. 4. Прогностические факторы неблагоприятного течения острого инфаркта миокарда у пациентов с сахарным диабетом 2 типа при интенсивном контроле гликемии / А.И. Федотова, И.Н. Ворожцова, И.В. Максимов, Т.Ю. Реброва, С.А. Афанасьев, А.М. Гусакова, Т.Е. Суслова, В.А. Марков // Бюллетень сибирской медицины. – 2015. – Т. 14. № 5. – С. 91-99. (импакт-фактор – 0,313)

	5. Возрастные особенности периферического звена эритрона у крыс и его состояние при экспериментальном постинфарктном кардиосклерозе / Т.Ю. Реброва, С.А. Афанасьев, А.А. Чурин, Е.П. Федорова, Т.Ю. Ламзина, С.В. Попов //Успехи геронтологии. – 2017. – Т. 130. № 1. – С. 56-61. (импакт-фактор – 0,707)
в) Общее число ссылок на публикации кандидата в члены диссертационного совета в РИНЦ	228
г) Участие с приглашёнными докладами на международных конференциях. (Указать тему доклада, а также название, дату и место проведения конференции)	-
д) Рецензируемые монографии по тематике, отвечающей заявленной научной специальности. (Указать выходные данные, тираж).	-
е) Препринты, размещённые в международных исследовательских сетях. (Указать электронный адрес размещения материалов)	-

Официальный оппонент:
руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии
и генодиагностики НИИ кардиологии Томского НИМЦ,
доктор медицинских наук, профессор

Сергей Александрович Афанасьев

Сведения верны.

Ученый секретарь Томского НИМЦ
кандидат биологических наук

Ирина Юрьевна Хитринская

«12» 12 2017г.

Печать