ОТЗЫВ

официального оппонента, заведующего кафедрой биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Министерства здравоохранения Российской Федерации доктора медицинских наук, профессора Владимира Борисовича Бородулина на диссертационную работу Татьяны Николаевны Кочегуры 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 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

На сегодняшний день в лечении хронической сердечной недостаточности и сахарного диабета 2 типа как самостоятельных нозологий достигнуты значительные успехи, однако, сочетание сахарного диабета с сердечно-сосудистыми заболеваниями ухудшает прогноз этой категории больных. Несмотря на то, связь гипергликемии и частоты сердечно-сосудистых осложнений была многократно подтверждена в эпидемиологических исследованиях, тем не менее, механизмы их инициации до сих пор окончательно не выяснены.

Хорошо известно, что в основе хронической сердечной недостаточности и сахарного диабета лежит дисфункция эндотелия. Эндотелий, выстилающий сосуды, играет важную роль в развитии атеросклероза и формированиии новых сосудов после ишемии. Ранее полагали, что обновление эндотелиальных клеток

происходит медленно. Однако ряд исследований, в частности посвященных апоптозу эндотелиальных клеток, показали, что в периферической крови циркулируют предшественники эндотелиальных клеток, способные восстанавливать целостность сосудов. В то же время появились отдельные клинические исследования, демонстрирующие уменьшение циркулирующих предшественников эндотелиальных клеток при атеросклерозе и сахарном диабете 2 типа.

Следует отметить, что на современном этапе различные типы стволовых и прогениторных клеток уже проходят клинические испытания при заболеваниях ишемического генеза и демонстрируют противоречивые, неоднозначные результаты по своей эффективности. В этой связи, возможные нарушения процессов репарации и регенерации сосудов при сопутствующем сахарном диабете у больных с хронической сердечной недостаточностью определяют актуальность данной работы.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Результаты диссертационного исследования оригинальны и отличаются научной новизной. На модели гипергликемии in vitro получены новые данные об изменении функциональных характеристик прогениторных клеток, а именно, мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани, являющихся перспективным типом клеток для аутологичной клеточной терапии хронической сердечной недостаточности и других заболеваний ишемического генеза. Было показано, что культивирование мезенхимальных стромальных клеток в условиях хронической гипергликемии снижает их ангиогенные свойства за счет изменения профиля экспрессии генов ангиогенных и антиангиогенных факторов роста в сторону антиангиогенных, а окисленные липопротеиды низкой плотности снижают жизнеспособность мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани in vitro.

В клиническом исследовании автором продемонстрировано снижение ангиогенной активности мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани,

изолированных у пациентов с ИБС и ИБС, сочетающейся с сахарным диабетом 2 типа.

Более того, автором обнаружено влияние гипергликемии и на другой тип клеток, вовлеченный в процессы репарации/регенерации, а именно, на уменьшение количества циркулирующих прогениторных клеток костномозгового происхождения у пациентов с сердечной недостаточностью, сочетающейся с сахарным диабетом и установлено прогностическое значение низкого числа этих клеток с частотой сердечно-сосудистых осложнений в ходе проспективного наблюдения.

Таким образом, автор установил, что глюкоза как фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний - с одной стороны и ключевой фактор диабета - с другой, нарушает ангиогенные свойства стволовых/прогениторных клеток и уменьшает их численность, а окисленные липопротеиды низкой плотности как фактор риска атеросклероза, снижают жизнеспособность прогениторных клеток. Эти данные вносят существенный вклад в понимание клеточных механизмов отягощенного течения сердечной недостаточности при сопутствующем сахарном диабете с вовлечением системы регенерации.

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

Приведенные в диссертационной работе выводы и рекомендации обоснованы, логично следуют из полученных результатов исследования. В процессе работы были использованы современные адекватные поставленным целям и задачам модели и методики. Обоснованность научных положений подтверждается результатами исследований, выполненных на разных объектах исследования, в частности, культурах клеток человека и пациентах с ИБС и постинфарктной хронической сердечной недостаточностью и сахарным диабетом 1 и 2 типа.

В работе использован комплекс современных методов, включая клинико-инструментальные, биохимические, молекулярные и клеточные in vitro.

Достоверность данных подтверждается результатами статистической обработки, проведенной с помощью различных компьютерных программ, требуемых для конкретных объектов исследования. В том числе, для анализа данных использованы методы параметрической и непараметрической статистики, регрессионно-корреляционного анализа, позволившие корректно обосновать основные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации. Это подтверждает достоверность полученных результатов. Выводы и практические рекомендации соотносятся с поставленной целью, задачами исследования и соответствуют полученным автором результатам.

Работа апробирована на различных уровнях, результаты исследования были представлены на международных и российских симпозиумах. Результаты диссертации соответствуют содержанию публикаций автора, в том числе в статьях, опубликованных в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Результаты диссертационной работы Т.Н. Кочегуры обладают высокой теоретической и практической значимостью. Они вносят существенный вклад в расширение фундаментальных знаний о механизмах влияния сахарного диабета на течение постинфарктной хронической сердечной недостаточности у больных ИБС. Полученные данные указывают на то, что функциональные характеристики стволовых/прогениторных клеток у больных ИБС и постинфарктной хронической сердечной недостаточностью с сопутствующим сахарным диабетом нарушены, что имеет большое значение в развитии эндотелиальной дисфункции с последующим формированием сердечно-сосудистых осложнений, индуцированных диабетом.

С учетом вышесказанного, в условиях активно развивающейся регенеративной медицины в России и во всем мире, результаты данной работы являются высоко востребованными, как для понимания биологии регенеративных процессов при хронических заболеваниях, так и для

аутологичной клеточной терапии пациентов с тяжелой сердечной недостаточностью и сахарным диабетом, которые чаще всего и являются потенциальными кандидатами для подобного лечения.

Помимо этого, определение уровня циркулирущих прогениторных клеток может быть рекомендовано для оценки риска сердечно-сосудистых осложнений и своевременной коррекции нарушений углеводного обмена у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями и сахарным диабетом.

Материалы исследования внедрены в лабораторную практику работы медицинского научно-образовательного центра федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова"; результаты диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры биохимии и молекулярной медицины, а также кафедры физиологии и общей патологии факультета фундаментальной медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова".

Выполненный объем исследования, достоверность результатов, новизна и практическая значимость подтверждают большую ценность диссертационной работы.

Содержание работы, ее завершенность и оформление

Диссертационная работа Кочегуры Т.Н. построена по традиционному плану и состоит из основных разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, шести глав собственных исследований, расширенное заключение, выводы и практические рекомендации. Объем рукописи составляет 308 страниц. Список литературы включает 416 источников. В целом диссертация логично выстроена, разделы исследования дополняют друг друга. После представления результатов каждой главы следует раздел "Обсуждение" полученных данных, что, учитывая, большой объем выполненного исследования, позволяет не терять логику изложения материала.

Во введении автором обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, а также представлены основные положения, выносимые на защиту, приведены сведения об апробации и внедрении результатов работы в практику. В обзоре литературы подробно освещены аспекты коморбидности хронической сердечной недостаточности и метаболических нарушений, в частности, сахарного диабета и ожирения; поставлен ряд вопросов относительно роли клеточных факторов в развитии эндотелиальной дисфункции при сахарном диабете; роль нейрогормонов, ангиогенных факторов роста и адипоцитокинов при хронической сердечной недостаточности, сочетающейся с сахарным диабетом 2 типа.

В главе Материалы и методы подробно описаны примененные в работе методы исследования. Методическое обеспечение соответствует поставленным задачам. Исследование выполнено на высоком методическом уровне, методы изложены подробно и могут быть легко воспроизведены. Для достижения поставленной цели исследования были использованы как экспериментальные модели метаболических нарушений in vitro (гипергликемии и гиперлипидемии), так и достаточный объем клинического материала. В конце главы описаны способы статистической обработки результатов.

Собственные исследования автора представлены в 6 главах, в которых логично, последовательно и подробно изложены результаты экспериментальной части работы, клинико-экспериментальные данные и результаты проспективного клинического исследования.

В заключении обобщены основные результаты диссертационного исследования. Выводы обоснованы и корректны, соответствуют поставленным задачам и логично следуют из результатов работы и заключения. Проведенное исследование позволило автору предложить актуальные практические рекомендации. Выводы и практические рекомендации соответствуют основным положениям диссертации, обоснованы и достаточно четко отражают результаты работы.

Подтверждение опубликования результатов диссертации в научных изданиях

Публикации отражают основные положения диссертации (по теме диссертации опубликовано 35 статей, в том числе 5 патентов на изобретение). Достоверность полученных результатов подтверждается показателями цитируемости публикаций в системах Web of Science – 73, Scopus – 20; по данным РИНЦ количество цитирований – 126, индекс Хирша – 5.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Содержание работы и выводы, представленные в автореферате, соответствуют содержанию и выводам диссертации. Автореферат оформлен в соответствии с современными требованиями.

Список литературы содержит 416 источников. На долю литературы с 2010 по 2017 гг. приходится 244 источника, что составляет 58.6 % от всей использованной литературы.

Технические погрешности в диссертационной работе и автореферате.

1.Пропущен знак препинания (стр.10, 5-я строка сверху).

2.Следует читать «смертности у пациентов», стр.20, 10-ая строка вверху страницы.

3. Следует читать «при наблюдении», стр.21, 11-ая строка вверху страницы.

4.Следует читать «сердечно-сосудистых», стр.31, 13-ая строка вверху страницы.

5. Следует читать «кардиопротективное», стр.31, 5-ая строка снизу страницы.

6.Следует читать «материал», стр.35, 3-я строка снизу страницы.

7. Следует читать «гиперлипидемию», стр.36, 5-ая строка снизу страницы.

8.Следует читать «гиперэкспрессию», стр.43, 3-я строка сверху страницы.

9. Следует читать «сердечной», стр.50, 3-я строка снизу страницы.

10.Лишние знаки препинания на стр.73, 5 и 6-ая строки вверху страницы.

11. Следует читать «чтобы», стр.82, 3-я строка снизу страницы.

12.Следует читать «сердечно-сосудистых», стр.105, 2-ая строка вверху страницы.

13. Следует читать «ангиопоэтина-1», стр.112, 6-ая строка снизу страницы.

14.Следует читать «деятельность», стр.129, 9-ая строка вверху страницы.

15. Следует читать «действие», стр.230, 16-ая строка вверху страницы.

16.Следует читать «могут», стр.234, 5-ая строка снизу страницы.

17. Следует читать «ангиогенную», стр.235, 3-я строка снизу страницы.

18.В списке литературы (ссылка 229) не указан год выхода статьи, стр.275.

19.В автореферате следует читать «основным механизмом» и «широчайший спектр», стр.24, 2 и 4-ая строки снизу.

20.В автореферате следует читать «2 случая декомпенсации» и «4 случая декомпенсации», стр.35, 3 и 4-ая строки снизу.

21.В автореферате следует читать «могут быть» стр.38, 10-ая строка снизу.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по данной диссертационной работе нет. К числу замечаний можно отнести следующее: текст обзора литературы на наш взгляд перегружен узко специфической терминологией, в том числе англоязычной.

Из представленных материалов не до конца ясна роль гипергликемии в механизмах снижения циркулирующих прогениторных клеток у больных сахарным диабетом. Какие факторы оказывают благоприятное влияние на численность и функциональные характеристики этого типа прогениторных клеток? В своей работе автор использовал только две концентрации глюкозы, наверное, следовало бы исследовать как минимум четыре концентрации, включая концентрацию, отражающую среднее значение нормы и концентрацию «почечного порога» глюкозы. В целом, указанные замечания не умаляют ценности представленной работы Кочегуры Т.Н.

Вопросы по диссертации

1.На стр. 92 диссертационного исследования автор указывает на изменения экспрессии 19 из 84 генов, при этом экспрессия 13 генов была повышена, а 6 генов подавлена. Какие механизмы такой избирательной специфичности действия глюкозы на геном, по мнению автора, могут быть привлечены для объяснения подобного феномена?

2.Использовал ли автор в своей работе стандартные окислители и антиоксиданты для сравнения их действия с окислительным потенциалом ЛОНП?

3.Автор указывает на повышение экспрессии ангиопоэтина посредством образования метилглиоксаля при попадании повышенных концентраций глюкозы в клетку (стр.102). Хотелось бы уточнить механизм действия глюкозы.

4.Будет ли, по мнению автора, культивирование в условиях гипоксии перед трансплантацией клеток МСК ЖТ повышать онкогенный потенциал подобных клеток?

Заключение

Диссертационная работа Кочегуры Татьяны Николаевны "Молекулярные и клеточные механизмы влияния сопутствующего сахарного диабета 2 типа на течение сердечной недостаточности", представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук, является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, вносящим крупный вклад в медицинскую науку и раскрывающим механизмы усугубления сосудистых нарушений и развития сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ишемической сердечной недостаточностью на фоне сопутствующего сахарного диабета. В данной работе показано, что стволовые/прогениторные клетки являются мишенями для таких распространенных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний как гипергликемия, сахарный диабет и гиперлипидемия, что диктует поиск способов и подходов для коррекции

Разработка данной темы имеет большое медико-социальное значение и в самое ближайшее время внесет существенный вклад в улучшение качества лечения пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, благодаря коррекции клеточного звена системы регенерации, как одного из ключевых патогенетических механизмов сердечно-сосудистых заболеваний.

Кроме этого, оценка количественного содержания циркулирующих прогениторных клеток для прогнозирования риска сердечно-сосудистых осложнений способствует развитию дифференцированного подхода к лечению больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и сопутствующими нарушениями углеводного обмена и сахарным диабетом, а также улучшению качества оказания медицинской помощи этой группы пациентов.

По своей актуальности, методам и объему выполненных исследований, научному содержанию, 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 автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 14.03.03. – патологическая физиология и 03.01.04 – биохимия (медицинские науки).

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского" Министерства здравоохранения Российской Федерации,

доктор медицинских наук,

профессор Бородулин Владимир Борисович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского" Министерства здравоохранения Российской Федерации, 410012, Приволжский федеральный округ, Саратовская область, г. Саратов, ул. Большая Казачья, 112; телефоны: (845)-227-33-70, (845)-266-97-00; Факс: (845)-251-15-34

E-mail: borodulinvb@mail.ru

Подписи ЗАВЕРЯЮ Начальник ОК

«22» 02 2018 г.

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	Бородулин Владимир Борисович	1960	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского Министерства здравоохранения Российской Федерации; заведующий кафедрой биохимии	доктор медицинских наук, 03.01.04 - биохимия	профессор	03.01.04 – биохимия (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. Borodulin V.B., Durnova N.A., Vasiliadis R.A., Losev O.E., Chesovskih Y.S., Goroshinskaya I.A., Kachesova P.S., Babushkina I.V., Polozhentsev O.E. Study of the biological effect of iron nanoparticles // Nanotechnologies in Russia. 2015. T. 10. № 3-4. C. 268-277. 2. Effect of iron nanoparticles on free radical oxidation process in blood of rats with Pliss lymphosarcoma / P.S. Kachesova, I.A. Goroshinskaja, V.B. Borodulin, E.V. Shalashnaja, A.V. Chudilova, L.A. Nemashkalova // Biomed Khim. – 2016. – 62(5). – 555-560.
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. Показатели углеводного и липидного обмена у наркозависимых пациентов с различным стажем употребления наркотичечских препаратов опиатной группы / Е.Н. Бычков, В.Б. Бородулин, Ю.Б. Барыльник, Н.В. Филиппова // Вопросы наркологии. – 2014. – № 2. – С. 28–35. 2. Длительность употребления наркотических препаратов как фактор изменения показателей белкового обмена и клеточного цитолиза / Бычков Е.Н., Бородулин В.Б., Барыльник Ю.Б., Филиппова Н.В. // Наркология. – 2014. – Т. 13. № 6(150). – С. 56–63. 3. Диагностика хронической болезни почек на ранней стадии / В.Б. Бородулин, А.А. Протопопов, В.И. Горемыкин, И.А. Утц, О.В. Шевченко, А.С. Волков, Е.Н. Бычков, О.Э. Лосев, О.В. Нестеренко // Клиническая нефрология. – 2014. – № 2. – С. 52–55. 4. Маркеры состояния почечных функций у больных с кардиальной патологией / А.С. Волков, О.В. Нестеренко, О.В. Шевченко, А.А. Протопопов, В.Б. Бородулин // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5. – С. 331. 5. Гипергомоцистеинемия как предиктор прогрессирования хронического пиелонефрита// / А.А. Протопопов, О.В. Нестеренко, В.Б. Бородулин, О.В. Шевченко // Клиническая нефрология. – 2013. – № 6. – С. 33–36.

в) Общее число ссылок на публикации кандидата в члены диссертационного совета в РИНЦ	172
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:

Заведующий кафедрой биохимии
ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России,
д.м.н., профессор В.Б. Бородулин

Сведения верны.

« 20 » 02 2018 г. Подпись В.Б. Бородулина заверяю:

Начальник ОК