

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук С.А. Лепеховой на диссертационную работу Великановой Елены Анатольевны на тему «Патогенетическое обоснование оптимальных способов доставки ростовых факторов при инфаркте миокарда (экспериментальное исследование)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Диссертационное исследование Великановой Елены Анатольевны «Патогенетическое обоснование оптимальных способов доставки ростовых факторов при инфаркте миокарда (экспериментальное исследование)» посвящено актуальной современной проблеме медицины. С конца 90-х годов прошлого столетия ишемическая болезнь сердца как причина развития хронической сердечной недостаточности вышла на первое место, потеснив артериальную гипертензию. При этом до 75% таких больных имели в анамнезе инфаркт миокарда. За последние 20 лет смертность от инфаркта миокарда у мужчин возросла на 60%. Инфаркт значительно помолодел. Сейчас уже не редкость увидеть этот диагноз у тридцатилетних. Инфаркт является и одной из основных причин инвалидности, а смертность среди всех заболевших составляет 10-12%. Отсутствие позитивных сдвигов в профилактике постинфарктной сердечной недостаточности стимулирует ученых к поиску неизученных патогенетических механизмов постинфарктного ремоделирования сердца и звеньев патологического процесса, на которые может быть оказано целенаправленное воздействие. Общеизвестно, что фактор роста эндотелия сосудов участвует в индукции и регуляции как нормального, так и патологического ангиогенеза, стимулирует пролиферацию эндотелиоцитов, однако в литературе нет единого мнения о дозе, способу введения ростовых факторов.

Диссертация написана в традиционной форме состоит из введения, обзора литературы, главы о материалах и методах исследования, трех глав собственных результатов, заключения, выводов и списка использованной литературы.

Диссертация изложена на 112 страницах машинописного текста, содержит 5 таблиц, 14 рисунков. Для решения поставленных задач автором проанализировано 129 источников, в том числе 24 отечественных и 105 иностранных авторов, причем более 50% цитированных публикаций – за последние 5 лет. Это отражает актуальность исследованной проблемы.

Логика диссертации сводится к патогенетическому обоснованию эффективности разных вариантов доставки сосудисто-эндотелиального ростового фактора при экспериментальном инфаркте миокарда.

Рассмотрим структуру работы. Во введении автором обоснована актуальность темы исследования, четко определены объект, цель исследования, поставлены конкретные задачи.

Работа хорошо апробирована, по материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ из них 2 статьи в журналах рекомендованных ВАК РФ.

В главе 1 «**обзор литературы**» систематизированы и обсуждены современные литературные данные. Автор приводит современные представления о патогенетических механизмах репарации миокарда после инфаркта, о роли ангиогенеза и васкулогенеза в восстановлении постинфарктного миокарда, данные о способах регуляции ангиогенеза, а также дает общую характеристику липосомальным препаратам. Достаточно подробно автор отобразила сведения о роли фактора роста VEGF в восстановлении ишемизированного миокарда. В обзоре литературы Великанова Елена Анатольевна в полной мере охарактеризовала состояние изученности основных вопросов, связанных с её исследованием, следует отметить, что глава 1 показывает перспективность данного научного направления, а также представляет интерес для практических врачей и студентов медицинских и биологических ВУЗов.

Глава 2 выполнена в традиционном стиле и посвящена материалам и методам исследования, в том числе описана модель инфаркта миокарда у крыс. В главе детально описаны современные методы оценки VEGF в миокарде и сыворотке крови, гистологические методы, содержится раздел о методах статистической обработки результатов. Выбранные для достижения цели и решения задач методы исследования современны и корректны. Объем проведенных исследований достаточен для обоснования достоверных научных положений, выводов и рекомендаций.

Глава 3 содержит результаты собственных исследований *in vitro* посвященных оценке эффективности применения липосомальных препаратов. Проведена оценка взаимодействия клеток с липосомами различного состава, включая липосомы содержащие VEGF в разной концентрации. В стендовых исследованиях с использованием клеточных культур изучен протективный эффект липосом различного состава в условиях сывороточной депривации с оценкой жизнеспособности клеток, маркеров раннего, позднего апоптоза и некроза фибробластов. Необходимо отметить, что в таблице 2 на странице 47 название не соответствует содержанию. Однако материалы интересные, убедительно представлены. Все данные иллюстрированы и подтверждены таблицами, микрофотографиями.

Глава 4 посвящена сравнительной оценке способов доставки липосомальной формы VEGF. Однако в главе отражены результаты введения флуоресцентно меченных липосом (РКН-Л) разного диаметра (100 нм и 50 нм), в миокард и в хвостовую вену без уточнения наличия липосом с VEGF. Выяснить точно группы животных не удалось, поскольку они не описаны в материалах и методах. Тем не менее, по результатам понятно, что было сформировано 4 группы животных, которым вводили липосомы разного размера, двумя способами (1 группа – животным вводили в хвостовую вену липосомы диаметром 50 нм; 2 группа – животным вводили в хвостовую вену липосомы диаметром 100 нм; 3 группа – животным вводили интрамиокардиально липосомы диаметром 50 нм; 4 группа – животным

вводили интрамиокардиально липосомы диаметром 100 нм). Животных выводили из исследования через трое суток, есть результаты, полученные после выведения животных через 30 минут после системного введения липосом. Выводы из результатов обоснованы и доказаны.

Глава 5 посвящена важному аспекту – сравнительной оценке эффективности применения липосомальных препаратов содержащих VEGF в разной концентрации после инфаркта миокарда. Получены новые результаты доказывающие, что интрамиокардиальное введение липосом, содержащих VEGF в концентрации 25нг/мл, уменьшает степень повреждения миокарда после инфаркта, что сопровождается увеличением жизнеспособных кардиомиоцитов в зоне инфаркта, снижении уровня показателей ишемии миокарда. При описании в тексте значимых различий между группами принято указывать величину p , например $p_{\text{U}} = 0,0043$, тогда оппоненту понятно, что значимость выявлена с использованием критерия Манна-Уитни и нет необходимости все время обращаться к таблице с результатами. Однако высказанное замечание не носит принципиальный характер.

Великановой Е.А. детально проведен анализ всех выявленных отклонений полученных результатов с использованием современных методов статистической обработки и соответственно сделаны фундаментальные, основополагающие выводы. Основные положения и рекомендации научно обоснованы и аргументированы.

На основании вышесказанного следует, что диссертационная работа Великановой Е.А. выполнена на высоком профессиональном уровне и имеет большое научно-практическое значение. Диссертация написана хорошим литературным языком, легко читается, не содержит ошибок и опечаток, оформлена на высоком издательском уровне.

Диссертация, несомненно, обладает научной новизной заключающейся в том, что автором впервые, на современном методическом уровне проведена оценка органного распределения липосом в зависимости от пути введения препарата. Показано, что при интрамиокардиальном введении липосом,

содержащих VEGF, они депонируются в межклеточном пространстве миокарда, обеспечивая пролонгированную доставку ростового фактора. Установлено, что липосомы, содержащие VEGF в концентрации 25 нг/мл, обладают выраженным ангиогенным действием, а также уменьшают ишемическое повреждение миокарда и выраженность апоптоза. При введении липосом, содержащих VEGF в концентрации 5 нг/мл, требуемый терапевтический эффект не достигается. Доказано, что липосомальная форма доставки VEGF значительно увеличивает терапевтический (ангиогенный, противоишемический) эффект по сравнению со свободной формой ростового фактора.

Приоритетными являются сведения о том, что одним из механизмов способствующих улучшению кровоснабжения ишемизированного миокарда является пролонгированная доставка ростового фактора до 7 суток после инъекции.

Несомненна теоретическая и практическая значимость выполненного исследования. На экспериментальной модели ишемизированного миокарда определена оптимальная лекарственная форма, концентрация и путь введения сосудисто-эндотелиального ростового фактора для оказания ангиогенного, антиишемического и кардиопротективного эффекта в отношении постинфарктного миокарда.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций не вызывает сомнений, т.к. они соответствуют основному содержанию работы, подтверждаются фактическими данными и математическими расчетами.

Научные выводы диссертационного исследования соответствуют поставленным задачам, которые, в свою очередь, полностью раскрывают цель исследования. Основные положения, выносимые на защиту, вытекают из результатов работы и являются обобщением выводов проведенного исследования. Количество наблюдений в экспериментальных группах достаточно. В работе использованы методы непараметрической статистики, их применение корректно.

Материалы диссертации в полной мере отображены в публикациях и докладах и заканчиваются практическими рекомендациями. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейших исследованиях при разработке фармацевтических препаратов, обладающих ангиогенным и кардиопротективным эффектами.

Автореферат оформлен согласно всем требованиям, полностью отражает содержание диссертации.

Замечания и вопросы

Кроме замечаний, изложенных в разделе отзыва оппонента, посвященном структуре диссертации, возникли следующие замечания и вопросы, требующие обсуждения.

1. Какое количество животных у Вас было в группах и сколько животных выводилось в каждой точке забора материала?
2. Чем обусловлено выполнение повторной операции с введением препаратов на третьи сутки исследования?
3. С какой целью липосомальные препараты были разведены в 10 раз при проведении стендовых исследований на клеточных культурах.
4. Почему после 4-х часов инкубации клеток с липосомами содержащими VEGF в концентрации 25 нг/мл отсутствует флуоресцентное свечение?
5. Объясните, пожалуйста, с чем может быть связано снижение накопления флуоресцентной метки в селезенке при интрамиокардиальном введении крупных липосом (100) по сравнению с мелкими (50) на третьи сутки исследования? Тогда как, при введении препарата в хвостовую вену накопление в селезенке было одинаковым независимо от величины липосом.
6. С чем, по Вашему мнению, связаны различия в количестве VEGF у контрольных животных на 7-е сутки, в миокарде показатель высокий, а в сыворотке нулевой?

Однако поставленные вопросы не носят принципиального характера и не умоляют достоинств диссертации Великановой Е.А.

Заключение. Диссертационная работа Великановой Елены Анатольевны «Патогенетическое обоснование оптимальных способов доставки ростовых факторов при инфаркте миокарда (экспериментальное исследование)», является законченной, научно-квалификационной работой, имеющей большое значение для патологической физиологии, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная проблема – проведено патогенетическое обоснование эффективности разных вариантов доставки сосудисто-эндотелиального ростового фактора при экспериментальном инфаркте миокарда.

По актуальности, новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости представленная работа полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России (утверждено Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г., № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 — патологическая физиология, а автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 — патологическая физиология.

Официальный оппонент:

Заведующая научным отделом
экспериментальной хирургии с виварием
ФГБУ «Научный центр реконструктивной
и восстановительной хирургии»
Сибирского отделения Российской
академии медицинских наук,
доктор биологических наук



Удостоверяю
подпись Лепехова С.А.
И.П. Лепехова С.А.
12.06.2015

С.А.

С.А. Лепехова