

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Гомбожаповой Александры Энхэевны «Восстановительная регенерация миокарда у больных на ранних и поздних сроках инфаркта миокарда: функциональная поляризация макрофагов», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.05 – кардиология

Актуальность темы. Прогресс в лечении острого инфаркта, обусловленный внедрением методов хирургической и эндоваскулярной реваскуляризации и технологий тромболитика, привел к значительному снижению ранних летальных исходов. Однако, частота развития постинфарктной сердечной недостаточности не уменьшилась, что составляет существенную медицинскую и социальную проблему. В основе развития постинфарктной сердечной недостаточности лежит постинфарктное ремоделирование сердца, обусловленное потерей сокращающегося миокарда и заменой ее несокращающейся фиброзной тканью. Интенсивность этого процесса зависит от эффективности и динамики репаративных процессов в постинфарктном сердце, регулируемых иммунной системой, в частности, системой врожденного иммунитета, представителями которой являются сердечные моноциты/макрофаги. Их функция и определяет оптимальное соотношение длительности и интенсивности острой воспалительной фазы репаративного процесса и регенеративной фазы. Поиск эффективных путей управления процессом репарации сердца после инфаркта делает крайне актуальным изучение молекулярных и клеточных механизмов, определяющих неблагоприятное развитие репаративного процесса и постинфарктного ремоделирования сердца как в ранние, так и в более отдаленные сроки после инфаркта, и, в частности, изучение механизмов участия в этом процессе сердечных моноцитов/макрофагов. Это определяет актуальность и перспективность темы диссертационного исследования Александры Энхэевны Гомбожаповой. Изучение этого вопроса сопряжено с определенными сложностями, обусловленными крайней гетерогенностью популяции макрофагов и динамичным изменением их иммунофенотипа в ответ на факторы внешней среды. Формирующиеся в естественных условиях популяции макрофагов значительно отличаются от получаемых *in vitro* M1 и M2 популяций.

Данные последних лет указывают на то, что в ответ на изменение сигналов микроокружения, макрофаги могут проявлять уникальные свойства, не позволяющие отнести их ни к одному из этих подтипов.

Помимо этого, роль факторов воспаления в течении экспериментального инфаркта может не вполне соответствовать тому, что происходит при инфаркте у больных с предшествующим атеросклерозом и ишемической болезнью сердца, отягощенных коморбидностями. Поэтому исследование пространственно-временного паттерна аккумуляции сердечных моноцитов/макрофагов различных иммунофенотипов и в различные сроки после развития ИМ позволяет не только валидировать полученные в экспериментах данные, касающиеся функциональных значений описанных макрофагальных фенотипов, но и добавить новое понимание их роли в репаративных процессах при инфаркте у человека.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В данной диссертационной работе разработан оригинальный протокол для исследования вклада воспалительных механизмов в течение фатального ИМ. Протокол включает изучение пространственно-временного паттерна аккумуляции сердечных моноцитов/макрофагов в зоне инфаркта, перинфарктной зоне и отдаленной неповрежденной зоне миокарда больных, умерших в разные сроки после инфаркта ИМ I типа с помощью иммуногистохимической и иммунофлуоресцентной визуализации макрофагов. Исследованы разные иммунофенотипы сердечных макрофагов, экспрессирующих маркеры CD68, CD163, CD206 и скавенджер-рецептор стабилин-1 в сопоставлении с клиническими и патоморфологическими характеристиками больных фатальным ИМ I типа, что позволило продемонстрировать фенотипическую гетерогенность сердечных макрофагов при ИМ на клиническом материале и связь определенных фенотипов с клиническими и патоморфологическими характеристиками больных, в частности, с разрывами миокарда, наличием аневризмы левого желудочка.

Впервые показано, что летальные исходы на более поздних сроках (после 4 дня) ассоциируются с выраженной инфильтрацией макрофагами всех

исследованных иммунофенотипов как зоны инфаркта, так и перинфарктной и отдаленной зоны, что указывает на вклад воспаления в развитие фатальных инфарктов в этот период времени. Полученные данные впервые сопоставлены с наличием/выраженностью инфильтрации макрофагами этих иммунофенотипов у больных, погибших от травм и не имеющих в анамнезе заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Установлены различия в макрофагальной инфильтрации в раннюю фазу, связанную с острой ишемией миокарда и характеризующуюся увеличением CD68+ и CD163+ макрофагов, и в позднюю регенераторную фазу, характеризующуюся увеличением стаблин-1+ и CD206+ макрофагов, что может косвенно указывать на функциональные различия этих фенотипов.

Содержание работы, ее завершенность и оформление

Диссертация построена по традиционной схеме, насчитывает 167 страниц машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов, списка использованной литературы, включающего 203 источника (6 отечественных и 197 иностранных), иллюстрирована 39 таблицами и 53 рисунками.

Во введении автор раскрывает актуальность темы исследования, формулирует рабочую гипотезу и логично подводит к цели исследования, которая заключается в изучении макрофагальной инфильтрации миокарда у пациентов с фатальным течением ИМ I типа и ее взаимосвязи с клинико-анамнестическими и патоморфологическими характеристиками больных на ранних и поздних сроках заболевания, формулирует задачи работы, направленные на достижение ее цели, подробно представляет научную новизну и научно-практическую значимость исследования, останавливается на положениях, выносимых на защиту, внедрении результатов работы в практику, обосновании степени достоверности результатов, апробации работы, публикациях, личном участии автора в получении результатов, структуре и объеме диссертации. В целом введение оптимального объема, занимает 9

страниц текста, что позволяет автору дать в начале диссертации всю необходимую информацию о работе.

В главе 1 «Обзор литературы» в свете современных представлений рассмотрены молекулярно-клеточные основы постинфарктной регенерации миокарда, подробно охарактеризованы происхождение и функция сердечных макрофагов, их функциональная классификация/поляризация, фенотипическая гетерогенность и функциональная пластичность. Отдельные подглавы посвящены роли моноцитов/макрофагов в механизме постинфарктной регенерации и ремоделирования миокарда, в развитии кардиального фиброза и месте макрофагов в оси «сердце-мозг-почки» при ИМ. Значительный раздел обзора литературы посвящен моноцитам/макрофагам как потенциальной мишени для профилактики и лечения постинфарктного ремоделирования сердца, включая в качестве мишеней циркулирующие моноциты и их резервуары и фенотип макрофагов. Обзор демонстрирует высокую научную эрудицию автора, аналитические способности и погруженность в исследуемую проблему. Раздел написан с использованием достаточного количества литературных источников, иллюстрирован информативными таблицами. Из обзора с очевидностью вытекает актуальность цели и задач исследования.

В главе 2 представлены материалы и методы исследования. Глава традиционно включает дизайн исследования с описанием групп больных. Хотя использование в качестве контрольной группы материала от больных, умерших от травм и не имевших сердечно-сосудистых заболеваний, не может считаться вполне адекватной контрольной группой, ее следует признать единственно возможной для сравнения, так как получить материал миокарда у выживших больных с ИМ не представляется возможным. Подробно описаны методы иммуногистохимического и иммунофлуоресцентного анализа с указанием используемых реактивов и антител. Дана информация об используемых программах для статистической обработки полученных данных. Все используемые методические подходы современны, полностью адекватны цели и задачам работы.

В главе 3 представлены результаты собственных исследований по оценке макрофагальной инфильтрации миокарда у больных на ранних и поздних сроках

инфаркта миокарда. Установлено, что у пациентов с фатальным течением ИМ I типа с 1-х по 28-е сутки заболевания отмечается инфильтрация макрофагами, имеющими различные иммунофенотипы - экспрессирующие следующие маркеры: CD68, CD163, CD206, стабиллин-1. Показано, что количество CD68+, CD163+ и стабиллин-1+ макрофагов увеличивается по мере продолжительности заболевания во всех исследуемых зонах, включая зону инфаркта, периинфарктную и отдаленную зоны, а количество CD206+ макрофагов, увеличивается по мере продолжительности заболевания только в зоне инфаркта. Впервые обнаружено, что в миокарде у людей без сердечно-сосудистых заболеваний, погибших от травм, присутствуют сердечные CD68+, CD163+, CD206+ и стабиллин-1+ макрофаги. Выявлена инфильтрация макрофагами различных иммунофенотипов в ответ на острую ишемию в первые 72 часа, и в более поздние сроки, характерные для регенераторной фазы, что может указывать на функциональную «специализацию» сердечных макрофагов различных иммунофенотипов. Продемонстрировано, что интенсивность макрофагальной инфильтрации в различных участках миокарда изменяется в зависимости от сроков заболевания. Подробно дана фенотипическая характеристика макрофагальной инфильтрации миокарда в зоне инфаркта, периинфарктной зоне и зоне, отдаленной от инфаркта, показавшая, что в зависимости от сроков ИМ, наряду с изменением количества макрофагов, изменяется и профиль экспрессии их рецепторов во всех исследованных зонах. Установлена выраженная фенотипическая гетерогенность сердечных макрофагов у больных ИМ, которые представлены следующими субпопуляциями: CD163+/CD206-, CD206+/CD163-, CD163+/CD206+, стабиллин-1+/ α -SMA-. Впервые выявлены миофибробластоподобные клетки с фенотипом стабиллин-1+/ α -SMA+ и представлено их пространственно-временное распределение. Переходя к результатам исследования взаимосвязи субпопуляций сердечных макрофагов и клинико-anamnestических и патоморфологических характеристик больных фатальным ИМ I типа на ранних и поздних сроках заболевания автор подробно описывает фенотипические характеристики сердечных макрофагов, ассоциированные с фиброзом в интактном миокарде у больных, взаимосвязь количества сердечных макрофагов и моноцитов периферической крови, связь фенотипических характеристик

сердечных макрофагов с состоянием функции почек, а также развитием соматогенного делирия при ИМ, особенности фенотипических характеристик сердечных макрофагов при первичном и повторном инфаркте, а также в зависимости от времени начала заболевания до поступления в стационар и выбранной стратегии лечения. Показана связь между фенотипическими характеристиками сердечных макрофагов и ФВ ЛЖ у пациентов с ИМ, умерших на поздних сроках заболевания и с признаками ремоделирования ЛЖ, с развитием кардиогенного шока в ранние сроки и острой аневризмы.

В целом глава результаты написана логично, хорошо иллюстрирована рисунками, диаграммами, таблицами.

Глава 4 «Обсуждение» содержит подробный анализ и интерпретацию полученных результатов в сопоставлении с литературными данными.

Выводы полностью соответствующим задачам исследования и целиком вытекают из полученных результатов и их анализа.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертационного исследования. Диссертация и автореферат хорошо иллюстрированы рисунками и диаграммами.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и выводов по диссертации. Степень достоверности результатов, предоставленных в работе, обоснована соответствием дизайна исследования поставленным в работе целям и задачам, применением современных методов исследования и подтверждена адекватными методами статистической обработки. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, полностью основаны на фактических данных, полученных в исследовании.

Значимость для медицинской науки и практики полученных результатов. Диссертация Гомбожаповой Александры Энхэевны является научно-квалификационной работой, в которой решена научно-практическая задача по изучению макрофагальной инфильтрации миокарда у пациентов с фатальным течением инфаркта миокарда, имеющей значение для развития кардиологии.

Результаты работы предоставляют новую информацию о процессах, протекающих в миокарде в ответ на острую ишемию, что в перспективе может внести вклад в разработку новых фармакологических подходов к регулированию постинфарктного ремоделирования сердца. Результаты, полученные в ходе исследования, указывают на перспективность использования неинвазивной визуализации постинфарктного воспаления миокарда при помощи сцинтиграфии миокарда с ^{99m}Tc -аналогом соматостатина.

Протокол иммуногистохимического и иммунофлюоресцентного анализа макрофагальной инфильтрации миокарда человека, отработанный в ходе выполнения данного исследования, может быть использован в дальнейших исследованиях роли воспалительных механизмов постинфарктного ремоделирования миокарда.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации с указанием типа учреждений, где их целесообразно внедрять.

Основные результаты и выводы могут быть использованы в научно-практической работе на кафедрах кардиологии, патологической анатомии учреждений высшего медицинского образования, лабораториях трансляционной биомедицины.

Основные результаты и выводы диссертации внедрены в учебный процесс на кафедре кардиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также применяются в новых научно-исследовательских протоколах по изучению системного моноцитарно-макрофагального ответа на острую ишемию миокарда у больных ИМ на базе НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

Рекомендации по использованию материалов работы в учебных курсах. Материалы работы могут быть использованы в учебных курсах преподавания таких дисциплин как «Кардиология» и «Патологическая анатомия» для студентов старших курсов, ординаторов, врачей в качестве дополнительного профессионального образования. Материалы работы могут быть использованы в образовательных программах магистратуры по трансляционным и биомедицинским технологиям.

Личный вклад соискателя. Личное участие автора заключалось в участии планирования исследования; изучении и анализе литературы по теме диссертации; отборе больных для включения их в исследование; формировании и анализе базы данных. Автор лично проводил иммуногистохимическое и иммунофлюоресцентное исследование миокарда больных. Помимо этого, личное участие автора заключалось в написании тезисов, научных статей, в оформлении патента; в выступлениях с устными и стендовыми докладами на всероссийских и международных конгрессах по кардиологии.

Замечания и вопросы. Принципиальных замечаний по работе нет. В качестве непринципиального замечания хотелось бы отметить необходимость небольшой редакторской правки автореферата и слишком обширное описание научной новизны, которое можно было бы сократить вдвое, а также необходимость более подробной характеристики контрольной группы, хотя бы возраст и пол.

В качестве дискуссии хотелось бы, чтобы автор дал гипотетическое объяснение установленных ассоциаций между низким содержанием стабиллин-1+/ α -SMA- макрофагов в интактном миокарде у больных ИМ и патоморфологическими признаками ремоделирования сердца, а также между наличием аневризмы ЛЖ и повышенным содержанием стабиллин-1+/ α -SMA+ клеток в зоне инфаркта.

Заключение

Диссертационная работа Гомбожаповой Александры Энхэевны «Восстановительная регенерация миокарда у больных на ранних и поздних сроках инфаркта миокарда: функциональная поляризация макрофагов», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.05 – кардиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи по изучению макрофагальной инфильтрации миокарда у

пациентов с фатальным течением инфаркта миокарда, имеющей значение для развития кардиологии и трансляционной медицины.

Работа соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 20.03.2021)), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.05 – кардиология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Парфенова Елена Викторовна

«10» ноября 2021г.



Сведения об официальном оппоненте:

Парфенова Елена Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Института экспериментальной кардиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а, e-mail: ueparfyon@mail.ru, тел.: +7(495) 414-67-12).

Подпись доктора медицинских наук

Парфеновой Елены Викторовны удостоверяю

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ кардиологии» МЗ РФ

д.м.н.



Скворцов А.А.