

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора, академіка НАМН України, член-кореспондента НАН України, ректора ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України» **Никоненка Олександра Семеновича** на дисертаційну роботу **Естріна Сергія Ігоровича** «Клітинна кардіоміопластика в комплексному лікуванні рефрактерної стенокардії (експериментально-клінічне дослідження)», поданої до офіційного захисту до спеціалізованої вченої ради Д 26.561.01 в ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук зі спеціальності 14.01.08 – трансплантологія та штучні органи.

1. Актуальність теми дисертації.

Ішемічна хвороба серця займає перше місце серед серцево-судинних захворювань за частотою ускладнень і летальності в світі. Смертність від неї в Україні складає 693 на 100000 населення. В останні роки привертає увагу категорія хворих, у яких вже були задіяні як медикаментозні, так і хірургічні методи (аорто-коронарне шунтування, стентування та ін.) лікування, але симптоми хвороби рецидивували та поступово прогресує систолічна дисфункція міокарда з маніфестацією ознак серцевої недостатності. Повторна реваскуляризація міокарда у таких хворих не можлива у зв'язку з дуже низькою скоротливою функцією міокарду. Такі пацієнти є не тільки медичною проблемою, але й соціальною, адже це сприяє розвитку інвалідності зі значними матеріальними затратами.

Лікування таких пацієнтів є дуже складним завданням, так як треба покращити якість життя та уникнути подальших ускладнень, таких як систолічна дисфункція лівого шлуночка з проявами серцевої недостатності, порушення ритму серця та ін.. З цією метою було запропоновано деякі напрямки: лазерна реваскуляризація, зовнішня контрпульсація, ударно-хвильова терапія. Але всі вони є недосконалими, тому одним із перспективних методів в останні роки є клітинна кардіоміопластика, а саме трансплантація стовбурових клітин.

Цей метод вже застосовується в медицині, але залишається не вирішеною низка питань: оптимальний тип стовбурових клітин, кількість клітин в трансплантаті, метод введення, кратність введення та період між трансплантаціями, показання для використання цієї методики, побічні ефекти. Дані літератури про ефективність клітинної трансплантації досить суперечливі. Все це обумовлює доцільність детального вивчення даної

проблеми, що і визначило актуальність роботи, і стало підставою для проведення дослідження.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К.Гусака НАМН України» і є фрагментом комплексних НДР «Вивчення ролі трансплантації мезенхімальних стовбурових клітин у регенерації міокарда щурів з експериментальним ушкодженням серця» (№ держ. реєстрації 0105U002702), а також НДР «Вивчення можливості клінічного застосування аутологічних стовбурових клітин для лікування хворих з рефрактерною стенокардією» (№ держ. реєстрації 0108U000565), у якій дисертант був відповідальним виконавцем.

Тему дисертаційного дослідження затверджено на засіданні вченої ради ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К.Гусака НАМН України» (протокол від 30.04.2014).

Здобувач на основі даних, отриманих при обстеженні хворих, вперше визначив ряд факторів, що впливають на ефективність лікування пацієнтів з рефрактерною стенокардією.

Мета і задачі дослідження.

Мета роботи відповідає темі дисертації та полягає у покращенні результатів лікування хворих на рефрактерну стенокардію шляхом клітинної кардіоміопластики мезенхімальними аутологічними стовбуровими клітинами, а завдання, що скеровані на її досягнення, є комплексними і пошукачем вирішені повністю.

3. Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що: вперше в Україні:

- Проведено дослідження основних патоморфологічних змін в міокарді при модельованому інфаркті та введенні мезенхімальних стовбурових клітин в умовах експерименту;
- Набули подальшого розвитку знання щодо прискорення неоангіогенезу після трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин;
- Доведено, що трансплантовані клітини активно брали участь у формуванні судин і сполучної тканини в зоні рубцювання інфаркту міокарда;
- Експериментально, патогенетично та клінічно доведено перспективність застосування трансплантації аутологічних

- мезенхімальних стовбурових клітин для лікування рефрактерної стенокардії з серцевою недостатністю;
- Вперше науково обґрунтована безпечність застосування методу трансендокардіальної імплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин.
 - Розроблено новий комплексний підхід, щодо формування нового напрямку в лікуванні ішемічної хвороби серця та рефрактерної стенокардії;

4. Теоретичне значення одержаних результатів полягає в теоретичному обґрунтуванні введення стовбурових мезенхімальних аутологічних клітин для прискорення неоангіогенезу, зменшення рубця, збереження кількості кардіоміоцитів при інфаркті міокарду.

- 5. Практичне значення одержаних результатів** полягає в тому, що:
- Розроблений метод клітинної кардіоміопластики в комплексному лікуванні рефрактерної стенокардії з серцевою недостатністю дозволяє покращити стан хворих, зберегти життєдіяльність організму, принаймні терміном до 1 року;
 - розроблена методика електромеханічного картування може виконуватися з метою оптимізації використання клітинної трансплантації в клінічній практиці;
 - запропонований спосіб ін'єкцій мезенхімальних аутологічних стовбурових клітин в зони гібернованого міокарду ;
 - клітинна трансплантація аутологічних мезенхімальних клітин може використовуватись на етапі підготовки до коронарного шунтування.

Впровадження результатів дослідження здійснено:

На галузевому рівні:

- Матеріали дисертаційної роботи використовуються у навчальному процесі на кафедрі хірургії ХМАПО

6. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Усі положення, висновки, рекомендації, що містяться у дисертації, науково обґрунтовані, достовірні, логічно витікають із результатів досліджень. Робота виконана на сучасному науково-методичному рівні із застосуванням принципів доказової медицини. Наукові положення, висновки та рекомендації, які викладені в роботі, отримані на достатньому фактичному матеріалі; методи статистичного аналізу, використані в роботі, адекватні.

Кількість досліджень та клінічних спостережень достатня. Подані в роботі малюнки та таблиці переконливі. Висновки та практичні рекомендації конкретні, повністю підтверджуються результатами дослідження.

Дисертаційна наукова робота відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 26.561.01 у Державній установі «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» НАМН України.

7. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

За темою дисертації опубліковано 33 наукові праці, з них 1 монографія, 22 статті у провідних фахових спеціалізованих виданнях, рекомендованих ДАК МОН України (в тому числі 5 статей у журналах, що індексуються в міжнародних наукометричних базах). Серед друкованих робіт є 8 тез та 2 патенти України на корисну модель.

Автореферат дисертації оформлений згідно вимог ДАК України, із чіткими і послідовно викладеними основними положеннями, результатами дослідження, висновками та практичними рекомендаціями.

За змістом автореферат повністю відповідає основним положенням дисертації.

8. Характеристика розділів, оцінка змісту дисертації, її завершеність у цілому.

Рукопис дисертаційної роботи має класичну структуру. Текст викладено українською мовою на 330 сторінках комп'ютерного тексту і складається із анотації, вступу, аналітичного огляду літератури, шести розділів власних досліджень, аналізу та обговорення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, додатків.

Основний текст містить 53 таблиці та 86 рисунків. Список цитованої літератури включає 364 посилання (з них: 209 – латиницею).

Анотація.

Усі розділи власних досліджень викладені у чіткій послідовності відповідно до мети та завдань дисертаційного дослідження, кожний наступний етап логічно впливає із попереднього.

Зауважень не містить.

Зміст.

Відображає план викладення дисертаційного дослідження.

Вступ.

Відображає актуальність обраної теми, в ньому зазначено зв'язок дисертації із науково-дослідною роботою та планом науково-дослідних робіт Державної установи «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К.Гусака НАМН України». Сформульовано мету та завдання дослідження,

визначено об'єкт, предмет та описано методи дослідження, викладено наукову новизну і практичну значимість результатів роботи, наведено дані щодо особистого внеску здобувача, висвітлення отриманих результатів у наукових публікаціях та у матеріалах наукових форумів.

Мета дослідження. Поліпшення безпосередніх і віддалених результатів лікування хворих на рефрактерну стенокардію шляхом застосування клітинної трансплантації на підставі вивчення патогенетичних механізмів впливу на міокард і показники метаболізму.

Розділ 1. Сучасні уявлення про рефрактерну стенокардію, методи її лікування і регенерацію серця. (огляд літератури).

Розділ подано як аналіз основних наукових публікацій за темою дисертаційної роботи з використанням вітчизняних і іноземних джерел.

Огляд літератури викладено детально та послідовно розкрито сучасні уявлення щодо механізмів розвитку та принципів лікування прогресуючої серцевої недостатності. Особливу увагу автор приділив аналізу сучасної наукової літератури щодо новітніх напрямків комплексного лікування пацієнтів із рефрактерною стенокардією.

Зауваження. Розділ об'ємний. Міг би бути скорочений.

Розділ 2. Матеріали та методи дослідження.

У розділі описані матеріали, методи і об'єкт дослідження. Дуже цікавий експериментальний матеріал одержаний при моделюванні гострого інфаркту міокарда у 120 щурів. В динаміці у лабораторних тварин вивчали маркери неоангіогенезу в сироватці крові. Про вміст оксиду азоту (NO) в плазмі крові судили за кількістю стабільних кінцевих метаболітів NO, а саме - $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ (UNOX). Концентрацію фактора росту ендотелію судин (VEGF) вимірювали на дволазерному проточному флуоресцентному аналізаторі Luminex (Luminex Corporation, США) з використанням наборів реагентів Simplex ProcartaPlex™ (Affymetrix, США). Визначення рівня ендотеліна-1 в плазмі крові проводили імуноферментним методом з використанням набору Endotelin (1-21) фірми «Biomedica» (Австрія) на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 2100. Терміни дослідження були через 1, 6, 24 години після індукції патологічного стану і лікування, а також на 7 і 30 добу дослідження. ПОЛ оцінювали за рівнями гаптоглобіна, церулоплазмїна та ТБК-активованих продуктів. Концентрацію гаптоглобіна (Hr) в сироватці крові визначали імунотурбідиметричним методом (реативи SENTINEL CH, Італія). Рівень церулоплазмїна оцінювали модифікованим методом Равїна по здатності окислювати р-фенїлендамін.

Ультразвукове дослідження (УЗД) серця проводили на апараті GE Vivid (США) за допомогою датчика 12 МГц. Терміни дослідження: 1 і 3 місяці експерименту. ЕКГ виконували на апараті ЕКО 1Т на 30 добу експерименту.

Матеріалом для морфологічних досліджень були ділянки міокарда лабораторних тварин. Гістологічне дослідження проводилося шляхом мікроскопії зі збільшенням $\times 100$ – $\times 400$. Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах, товщиною 5–6 мкм непрямим методом Кунса за методикою Brosman (1979 р.). Цифрові дані оброблені методами варіаційної статистики.

Отримані клінічні результати базуються на спостереженні 156 пацієнтів з рефрактерною стенокардією, що перебували на лікуванні з 2007 по 2013 в стаціонарі ДУ «Інститут невідкладної і відновної хірургії ім. В.К.Гусака НАМН України». В дослідження були включені переважно пацієнти з множинним ураженням серцевих артерій дистального типу. Більш ніж 50% хворих раніше у різні строки перенесли реваскуляризацію і у них відзначалося закриття шунтів і стентів, що пояснювало важкий перебіг РС.

З метою оптимізації методики клітинної кардіоміопластики у пацієнтів було сформовано 5 підгруп (по 15 осіб у кожній). 1-а підгрупа - порівняння, включала пацієнтів, які отримували тільки медикаментозну терапію. 2-а підгрупа - плацебо-контроль, в якій хворим виконували «порожні» трансендокардіальні ін'єкції в міокард за допомогою електрофізіологічної навігаційної системи NOGA XR. В 3-й підгрупі виконували системне внутрішньовенне введення ауто-МСК в дозі 50 млн. В 4-й підгрупі пацієнтам інтракоронарно вводили ауто-МСК в дозі 50 млн. в скомпromетовані коронарні артерії. 5-а підгрупа - особи з трансендокардіальним введенням ауто-МСК в дозі 50 млн. Ґрунтовно описані клінічні, біохімічні, та інструментальні методики, а також методи статистичного аналізу. Суттєвий об'єм цього розділу присвячений детальній клінічній характеристиці обстежених хворих, він містить оцінку функціонального стану пацієнтів.

Автор використовував катетерне електромеханічне картування ЛШ із застосуванням навігаційної системи нефлюороскопічного контролю Noga XR (Biosense Webster, США). За результатами електроанатомічного картування визначали форму, об'єм ЛШ, оцінювали локалізацію провідної системи, орієнтовно - наявність рубців. Геометрію ЛШ обов'язково порівнювали з даними вентрикулографії, яка виконувалася напередодні як етап коронарографії для верифікації даних.

Розділ 3. Експериментальне обґрунтування методик клітинної кардіоміопластики.

Розділ складається з підрозділів, у яких обґрунтовується методика клітинної кардіоміопластики. Вивчався метаболізм, патоморфологія і патофізіологія серця щурів, у яких моделювали гострий інфаркт міокарда. У цьому розділі досить впевнено доведено, що введення стовбурових клітин значно поліпшує перебіг інфаркту шляхом стимуляції неоангіогенезу, призводить до зменшення зони рубця, збільшення кількості живих кардіоміоцитів. Доведено ефект «хоумінгу» стовбурових клітин. Аналіз результатів експериментальних досліджень демонструє можливість використання аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин в клінічній практиці. Матеріал викладено зі знанням справи. Представляє значний науковий та практичний інтерес.

Зауваження. Розділ дуже цікавий особливо для розуміння механізму дії стовбурових клітин проте перевантажений цифрами. Доцільно було б використовувати більше графіків.

Розділ 4. Безпосередні результати лікування хворих на рефрактерну стенокардію.

У розділі наведено результати і аналіз змін функціональних значень центральної гемодінамики, динаміки електричної і механічної активності сегментів лівого шлуночка під час картування останнього за допомогою навігаційної системи Noga XR, змін у лабораторних показниках до і після клітинної кардіоміопластики.

Дизайн розділу відповідає вимогам доказової медицини, послідовний, несе досить багато цінної інформації для практичних лікарів. Представляє значний науковий та практичний інтерес.

Розділ 5. Порівняльний аналіз результатів різних способів введення аутологічних стромальних клітин в лікуванні хворих на рефрактерну стенокардію.

В розділі чітко проведене порівняння в динаміці 5 груп пацієнтів з різними способами введення трансплантату. Детально проаналізовано перебіг захворювання в залежності від метода введення, включаючи клінічний стан, зміни лабораторних показників, динаміку площі гібернованого міокарду, що досліджували за допомогою навігаційної системи NOGA XR.

Автор показав що клітинна трансплантація незалежно від способу введення підвищує ФВ ЛШ, більш істотно в підгрупі з трансендокардіальним способом введення. У підгрупах медикаментозного лікування і «порожніх» ін'єкцій була відсутня будь-яка динаміка ФВ ЛШ.

Розділ 6. Віддалені результати клітинної кардіоміопластики після трансендокардіального і внутрішньосудиного введення стовбурових клітин.

Дисертантом проаналізовані віддалені результати клітинної кардіоміопластики за різними методиками введення. У розділі з високим рівнем доказовості вивчені віддалені результати трансплантації аутологічних мезенхімальних стовбурових клітин у хворих на рефрактерну стенокардію.

На протязі 12-місячного спостереження показники ФВ ЛШ, КДО ЛЖ, КСО ЛЖ, УО, визначені під час ЕхоКГ, залишалися практично незмінними. По даним електромеханічного картування відзначали ознаки збільшення маси живого міокарда, що може бути показником покращення перфузії міокарда в зонах гібернованого міокарда ЛШ.

Позитивний клінічний ефект утримується на протязі 12-24 місяців з поступовим його зменшенням до 36 місяців. Але можливе проведення повторної процедури задля відновлення ефекта клітинної кардіоміопластики

Зауваження. Розділ перевантажений ілюстративним матеріалом.

Аналіз та узагальнення отриманих результатів завершує дисертацію і являє собою сукупність та обговорення всіх даних, отриманих під час виконання дисертаційної роботи.

Зауважень немає.

Сформульовані висновки відповідають поставленим меті та завданням дослідження і у повній мірі висвітлюють результати, отримані під час виконання роботи. Практичні рекомендації написані чітко і містять важливі для практики хірургів відомості щодо показань, строків й умов застосування традиційних та інноваційних методів лікування хворих на рефрактерну стенокардію.

9. Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту та оформлення.

У цілому, за час опрацювання дисертації та проведення її аналізу, робота справила позитивне враження. Дисертація не має принципових зауважень, проте звертають на себе увагу деякі недоліки.

В роботі містяться невдалі вислови та фразеологічні звороти. Розділи дисертаційного дослідження перенасичені цифровими таблицями, що затрудняє сприйняття матеріалу.

Взагалі дисертаційне дослідження можна було б дещо скоротити, що не вплинуло б на його змістовність.

Вказані зауваження носять дискусійний характер та не впливають на наукову та практичну цінність дисертації.

Хотілося б в процесі дискусії отримати відповіді на такі питання:

1. Наскільки доцільно було виконувати «пусті» ін'єкції?
2. Чи є наявність ускладнень?
3. Чи продовжуються подальші дослідження?
4. Чи необхідно збільшувати дозування клітин при внутрішньовенному введенні?
5. Щодо можливості поєднання інтраміокардіального введення стовбурових клітин з аортокоронарним шунтуванням?
6. Чи доцільно внутрішньокоронарне введення стовбурових клітин в поєднанні зі стентуванням?

10. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження.

Запропоновані в роботі інноваційні методи а також розроблена і апробована автором методика клітинної кардіоміопластики у хворих на рефрактерну стенокардію відкривають широкі можливості застосування результатів дисертації в каріохірургічній практиці.

Основні положення дисертаційного дослідження доцільно впроваджувати в роботу кафедр, кардіохірургічних, кардіологічних відділень лікувальних закладів та використовувати в навчальному процесі додипломних та післядипломних етапів освіти в медичних університетах та академіях.

11. Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Естріна Сергія Ігоровича «Клітинна кардіоміопластика в комплексному лікуванні рефрактерної стенокардії (експериментально-клінічне дослідження)» містить теоретичне узагальнення та науково-практичне вирішення проблеми підвищення ефективності комплексного лікування рефрактерної стенокардії.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків та практичних рекомендацій забезпечено достатньою кількістю досліджень і клінічних спостережень, застосуванням комплексу сучасних та інформативних експериментальних, клінічних і лабораторних методів дослідження. Отримані результати розширюють уявлення про можливості мультидисциплінарного диференційованого лікування рефрактерної стенокардії. Зміст дисертації відповідає спеціальності 14.01.08 – трансплантологія та штучні органи. Основні положення і результати дисертаційної роботи достатньо апробовані та висвітлені в наукових виданнях.

Таким чином, дисертаційне дослідження Естріна С.І. за змістом, новизною, теоретичним та практичним значенням відповідає вимогам

МОН України, що висуваються до докторських дисертацій, а її автор заслугове присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.01.08 – трансплантологія та штучні органи.

академік НАМН України,
член-кореспондент НАН України,
ректор ДЗ «Запорізька медична
академія післядипломної освіти МОЗ України»,
доктор медичних наук, професор

О. С. Никоненко



**ВЛАСНОРУЧНИЙ ПІДПИС
ПІДТВЕРДЖУЮ**
Никоненко О.С.

Начальник відділу кадрів
ДЗ "ЗМАПО МОЗ України"
« » 20 р.

Підпис *[Signature]*
Прізвище *Терещенко Т.М.*