

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Макаревича Павла Игоревича на тему: «Разработка метода комбинированной генной терапии ишемических заболеваний с использованием плазмидных конструкций с генами VEG165 и HGF человека», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.05 (кардиология) и 03.01.04 (биохимия)

Актуальность исследования

Изучение динамики концентрации некоторых цитокинов в плазме при длительной ишемии дает основания для предположения о том, что низкая их экспрессия может быть одной из причин недостаточно активного процесса естественной реваскуляризации. Имеющиеся на сегодняшний момент данные позволяют предположить, что острая ишемия способна «истощить» возможности к естественной репарации, что ведет к недостаточно активному формированию коллатерального кровотока. Одна из таких клинических ситуаций – хроническая сердечная недостаточность вследствие ишемической болезни сердца. Поиск способов восстановления кровотока в области ишемии, развившейся на фоне атеротромбоза в настоящее время перешел из области хирургии, в терапию. В этой связи одна из активно изучаемых, но до сих пор не реализованная возможность – искусственная активация процесса ангиогенеза. Этот подход может быть реализован, в том числе, методами генной терапии. Векторные системы, используемые в этом случае (вирусы или плазмидные ДНК) являются носителями для генов факторов роста и

ангиогенных цитокинов – bFGF, VEGF165, HGF, ангиопоэтина-1, PDGF и других белков, которые доставляли в пораженную ишемией ткань.

В то же время, методики, зарекомендовавшие себя на доклинической фазе, в исследованиях с двойным слепым контролем (AGENT-5, TAMARIS и др.) показали, что хотя терапевтический ангиогенез с введением одного гена хорошо переносится больными и является безопасным методом лечения, однако показатели эффективности были неудовлетворительными или говорили об ограниченной эффективности испытуемых препаратов.

Одним из путей увеличения клинического эффекта может быть применение комбинированных методов, в основе которых лежит показанная фундаментальными исследованиями аддитивность эффектов факторов роста на ангиогенез, регенерацию и пролиферацию клеток.

В связи с изложенным работа автора по исследованию уровня цитокинов при хронической сердечной недостаточности и последующее получение экспериментальных данных, касающихся создания комбинированного генно-терапевтического препарата для лечения ишемической патологии и стимуляции ангиогенеза/регенерации с использованием сочетания VEGF165 и HGF представляется весьма актуальной.

Научная новизна исследования и научно-практическая значимость полученных результатов

В работе автором впервые обнаружена связь системной концентрации VEGF165 и уровня натриуретических пептидов, отражающих тяжесть течения

хронической сердечной недостаточности (ХСН) и ассоциация уровня HGF с ИБС.

Автор изучил возможность стимуляции ангиогенеза с помощью нового метода генной терапии - комбинированной доставки генов VEGF165 и HGF, впервые исследовано влияние VEGF165 и HGF на систему воспаления, которая занимает определяющее место в стимуляции ангиогенеза в перинфарктной зоне. Также в опытах *in vitro* впервые был показан механизм регуляции секреции воспалительных хемокинов (MCP-1 и интерлейкина-8) при участии VEGF-165 и HGF и транскрипционных факторов, индуцируемых гипоксией (HIF).

Автором диссертации получены данные, которые могут быть использованы для разработки нового метода генной терапии ишемических заболеваний, представляющих актуальную проблему в кардиологии, а также раскрыты важные с фундаментальной точки зрения механизмы эффективности комбинированной генной терапии, в связи с чем, данная работа имеет высокую научно-практическую значимость.

Достоверность результатов и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

В работе автором использованы современные методы исследования, включающие клинические, биохимические, клеточные, молекулярно-биологические, физиологические и гистологические подходы. Полученные результаты были подвергнуты адекватной статистической обработке с использованием современных методов и критериев.

С помощью иммуно-ферментного анализа автором было измерен уровень VEGF165 и HGF в сыворотке больных ИБС, а также была дана экспрессионная характеристика плазмид, которые в дальнейшем использовали для введения генов этих цитокинов в ткани. В опытах на животных (мышинная модель ишемии задней конечности и крысиная модель ИМ) были использованы адекватные объемы групп и сроки наблюдения. Эксперименты на клеточных культурах проведены автором в достаточном количестве последовательных повторений, что позволяет говорить о достоверности 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.

Публикации по результатам диссертации включают 28 печатных работ, в том числе: 11 статей в журналах, входящих в перечень ВАК, 16 тезисов конференций и 1 патент на изобретение. Представленные в заключительной части выводы подкреплены результатами работы и сформулированы четко и логично.

Оценка содержания диссертации

Название, выбранное автором для диссертационной работы, отражает ее содержание и соответствует изложенному в рукописи материалу. При написании диссертации автор придерживался традиционной схемы. Содержание и структура разделов рукописи отвечает общепринятым требованиям к диссертационным работам. Текст диссертации состоит из

введения, главы 1 – обзора литературы, главы 2 – описания материалов и методов, главы 3 – изложения результатов работы и главы 4 – обсуждения результатов. В заключительной части автором приведены выводы, список сокращений и перечень использованных литературных источников (всего 434 ссылки, из них 9 – русскоязычных и 425 – англоязычных). Объем рукописи составляет 171 стр. компьютерной верстки, работа проиллюстрирована 34 рисунками и 9 таблицами.

В разделе "Введение" приведены основные положения, касающиеся актуальности тематики исследования, изложены существующие тенденции в генной терапии ишемических заболеваний, а также сформулированы цель исследования и задачи, которые планировалось решить в рамках исследования.

Достаточно объемный «Обзор литературы» (46 стр.) охватывает механизмы васкуляризации и ангиогенеза, а также участие выбранных объектов – VEGF165 и HGF – в этих процессах. Отдельный раздел посвящен взаимодействию VEGF165 и HGF как потенциальных кандидатов для комбинированного использования в терапевтических целях. Также проанализированы данные литературы, касающиеся применения факторов роста в качестве биомаркеров различных патологических состояниях. Кроме того, проведен анализ результатов клинических испытаний генно-терапевтических препаратов в кардиологии, в том числе возможных факторов, определяющих эффективность генной терапии. Глава «Материалы и методы» занимает 15 страниц и содержит критерии включения больных и здоровых добровольцев в исследование, а также подробное описание всех

использованных молекулярных, биохимических, цитологических, физиологических и гистологических методов исследования. Характер изложения обеспечивает возможность воспроизведения экспериментальной и статистической части исследования, а выбранные диссертантом методы и подходы отвечают задачам работы и современному мировому уровню. В главе «Результаты» приведены клинико-экспериментальные данные, полученные им в ходе выполнения исследования. В главе «Обсуждение результатов исследования» приводится анализ полученных данных и результаты сопоставления их с литературой и существующими представлениями в этой области. При обсуждении результатов автором также выдвинуты гипотезы о возможных направлениях развития, даны обобщающие схемы и описаны механизмы действия разработанного комбинированного препарата.

В заключении кратко суммируется содержание исследования и основные полученные результаты, а также подчеркивается значимость разработок в этой области медицинской науки. Диссертация содержит 6 выводов, полностью вытекающих из содержания работы.

Содержание автореферата и публикаций автора соответствует данным, приведенным в диссертации, которая по тематике и содержанию соответствует двум специальностям – 14.01.05 (кардиология) и 03.01.04 (биохимия). Принципиальных замечаний к работе нет.

Заключение

Диссертация Макаревича Павла Игоревича на тему: «Разработка метода комбинированной генной терапии ишемических заболеваний с использованием

плазмидных конструкций с генами VEGF165 и HGF человека», выполненная под руководством д.м.н., проф. Е.В. Парфёновой и представленная к защите по специальностям 14.01.05 (кардиология) и 03.01.04 (биохимия), является законченной научно-квалификационной работой. В работе содержится решение актуальной для медицинской науки задачи повышения эффективности генной терапии ишемических заболеваний за счет использования новой комбинации цитокинов VEGF165 и HGF, а также раскрыты клеточные и молекулярные механизмы действия препарата. Диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013г. №842), а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.05 (кардиология) и 03.01.04 (биохимия).

Официальный оппонент:

Заведующий первичным
сосудистым отделением
ГБУЗ «Городская клиническая
больница №51 Департамента
здравоохранения г. Москвы»,
д.м.н., профессор

Дмитрий Александрович Затеищиков

Подпись Д.А. Затеищикова заверяю
И.о. заместителя главного врача по кадрам



Мартон А.Е.

« 15 » сентября 2015 г.

В диссертационный совет Д 208.016.01

при ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Петроверигский пер., д.10, стр.3, г. Москва, 101990)

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте по кандидатской диссертации Макаревича Павла Игоревича на тему: «Разработка метода комбинированной генной терапии ишемических заболеваний с использованием плазмидных конструкций с генами VEGF165 и HGF человека» по специальностям 14.01.05 – кардиология и 03.01.04 – биохимия, медицинские науки

Фамилия, Имя, Отчество (полностью)	Ученая степень, наименование отрасли науки, научная специальность, по которой защищена диссертация, ученое звание (при наличии)	Полное название организации, являющейся основным местом работы официального оппонента (на момент представления отзыва)	Занимаемая должность в организации (на момент представления отзыва)	Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях (не менее 5-ти работ за последние 5 лет, близкие по теме оппонируемой диссертации)
Затейщиков Дмитрий Александрович	доктор медицинских наук, медицинские науки, 14.01.05 – кардиология. Профессор.	Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Городская клиническая больница №51 Департамента здравоохранения г.Москвы» Москва, ул. Алябьева дом 7/33	Заведующий первичным сосудистым отделением	<ol style="list-style-type: none"> 1. Лакомкин С.В., Терещенко С.Н., Сычев А.В., Масенко В.П., Ткачев Г.А., Герасимова О.Н., Сигалович Е.Ю., Данковцева Е.Н., Затейщиков Д.А. Биомаркеры при сердечной недостаточности: уровень аполирина не ассоциирован с наличием и степенью тяжести заболевания. Кардиология. 2015. № 2 (55). С. 37-41. 2. Минушкина Л.О., Чумакова О.С., Селезнева Н.Д., Евдокимова М.А., Осмоловская В.С., Благодатских К.А., Носиков В.В., Затейщиков Д.А. Развитие гипертрофии левого желудочка, ассоциированное с генетическим полиморфизмом медиаторов системы воспаления. Российский кардиологический журнал. 2014. № 10 (114). С. 23-28. 3. Герасимова О.Н., Данковцева Е.Н.,

				<p>Наконечников С.Н., Затеищиков Д.А. Воспаление и хроническая сердечная недостаточность: роль фактора некроза опухолей. Кардиологический вестник. 2014. Т. IX. № 4. С. 86-93.</p> <p>4. Евдокимова М.А., Асейчева О.Ю., Бакланова Т.Н., Чумакова О.С., Панфилова Е.Ю., Резниченко Н.Е., Бровкин А.Н., Никитин А.Г., Агапкина Ю.В., Осмоловская В.С., Кочкина М.Ю., Селезнева Н.Д., Затеищикова А.А., Талызин П.А., Сидоренко Б.А., Носиков В.В., Затеищиков Д.А. Прогностическая значимость уровня мозгового натрийуретического пептида и генетических факторов у больных, перенесших острый коронарный синдром. Кардиология. 2011. Т. 51. № 2. С. 26-33.</p> <p>5. Благодатских К.А., Никитин А.Г., Пушков А.А., Затеищиков Д.А. и др. Полиморфные маркеры G2667C, G3014A, C3872T, A5237G гена CRP и генетическая предрасположенность к неблагоприятному течению ишемической болезни сердца у больных, перенесших обострение ишемической болезни сердца. Медицинская генетика. 2011. Т. 10. № 4 (106). С. 3-9.</p>
--	--	--	--	--



Затеищиков Дмитрий Александрович

« 4 » августа 2015г.



Подпись профессора Д.А. Затеищикова заверяю
И.о. заместителя главного врача по кадрам

Мартон А.Е.