

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Кливера Евгения Эдуардовича на диссертацию Кузькина Сергея Александровича "Патоморфология миокарда при травме костной ткани и экспериментальном применении экзосом мультипотентных стромальных клеток", представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2 – патологическая анатомия

**Актуальность темы:** Клеточные технологии, основанные на применении мультипотентных стромальных клеток и их производных, обладают хорошим потенциалом для регенеративной медицины. Терапия на основе мультипотентных клеток и их производных рассматривается как многообещающий подход к терапии сердечно-сосудистых заболеваний, поскольку миокард взрослого человека имеет ограниченную регенераторную способность. В качестве одного из перспективных подходов к восстановлению мышцы сердца в последнее время рассматривается терапия на основе экзосом мультипотентных стромальных клеток.

Подобные подходы разрабатываются также для усиления регенераторных потенциалов других органов и тканей. Однако в данных случаях остается невыясненным ряд аспектов влияния клеточной терапии, опосредованной введением экзосом мультипотентных стромальных клеток, одних органов и систем организма на клеточные популяции отдаленных органов, в частности, миокарда. Поэтому решение проблемы реакций сердца на разные виды клеточной терапии остается одной из актуальных задач современной медицины.

В этом плане выполненное С.А. Кузькиным диссертационное исследование, целью которого является исследование структурных изменений миокарда при травме костной ткани и применении экзосом мультипотентных стромальных клеток, восполняет имеющийся пробел в знаниях и является актуальным.

**Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертации** не вызывает сомнений, поскольку автором использован в работе большой объем экспериментального материала (исследованы образцы миокарда 62 беспородных кроликов). Морфологические исследования проведены с использованием методов световой, флюоресцентной микроскопии и морфометрического анализа. Следует отметить, что в работе использованы методы получения и культивирования мультипотентных стромальных клеток, дана характеристика использованных МСК, описана процедура выделения их экзосом. Методы исследования вполне современны и адекватны поставленным задачам. Каждый полученный факт тщательно проанализирован, статистическая обработка

количественных данных проведена с применением адекватных подходов. Все это позволяет считать, что достоверность полученных результатов и сделанных на их основе выводов базируется на достаточном количестве проанализированного материала и современном методическом уровне.

**Новизна исследования, полученных результатов и выводов диссертации.** Автором впервые, по данным комплексного патоморфологического анализа, установлено, что повреждение проксимального мышечка большеберцовой кости у кроликов сопровождается развитием дистрофических изменений кардиомиоцитов, отеком миокарда, полнокровием и расширением лимфатических сосудов, лейкоцитарной инфильтрацией с преобладанием лимфоцитов и макрофагов. В процессе обширных операций на трубчатых костях конечностей возможно попадание структур красного костного мозга в правые полости сердца с формированием тромбов.

Автор впервые показал, что введенные в участок костной травмы экзосомы МСК с мечеными флюоресцентным красителем мембранами выявляются в течение 7 сут в сосудах миокарда и в периваскулярной соединительной ткани, их количество постепенно снижается вплоть до почти полного исчезновения к 10-м суткам эксперимента. Важно отметить, что применение экзосом МСК сопровождается более значительной дилатацией кровеносных сосудов с формированием обширных геморрагий, формированием тромбов как в полостях сердца, так и в его сосудах, пролонгацией явлений отека, но снижением выраженности дистрофических изменений кардиомиоцитов.

В диссертационной работе впервые установлено, что в миокарде правого и левого желудочков сердца развиваются одинаковые по направленности структурно-функциональные изменения в ответ на дистантное повреждение костной ткани, которые сохраняются в течение 10 сут. Следует отметить, что в обоих желудочках сердца наиболее выраженные изменения структурной организации после травмы костной ткани, в том числе и при введении экзосом МСК, происходят через 7 сут эксперимента и проявляются в уменьшении объемной плотности кардиомиоцитов, увеличении объемной плотности сосудов микроциркуляторного русла соответственно и увеличении суммарной объемной плотности клеток, волокон и основного вещества соединительной ткани. Кроме того, по результатам морфометрического анализа, автор показал, что в результате введения экзосом МСК после моделирования костного дефекта наиболее значительное увеличение общей численности клеток инфильтрата в строме миокарда обоих желудочков происходит через 10 сут эксперимента, в

основном за счет возрастания относительного и абсолютного содержания нейтрофилов, эритроцитов, макрофагов и клеток с признаками деструкции.

**Теоретическая и практическая значимость полученных результатов.**

В диссертационной работе С.А. Кузькина получены новые знания об особенностях реакций миокарда на повреждение костной ткани конечности с использованием экзосом МСК и без них. Внесен важный вклад в разработку проблемы структурных изменений миокарда в условиях выполнения травматичных хирургических операций и проведения клеточной терапии. Результаты исследования могут учитываться в практической работе патологоанатомов, гистологов, кардиологов, хирургов и травматологов при подготовке плановых хирургических вмешательств. Разработанные патоморфологические маркеры изменений миокарда могут использоваться в практической работе патологоанатомических отделений при проведении аутопсий пациентов, умерших после обширных операций или травм.

**Оценка содержания работы и ее завершенности в целом.** Диссертация С.А. Кузькина построена по классической схеме, состоит из введения, обзора литературы, главы с изложением материала и методов исследования, двух глав с результатами собственных исследований, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 185 источников (46 отечественных и 139 иностранных).

Во введении автор обоснована необходимость проведения патоморфологических исследований, четко сформулированы цель и задачи диссертационной работы, определены научная новизна и практическая значимость полученных результатов.

В обзоре литературы проанализированы имеющиеся данные о возможности клеточных технологий при коррекции сердечно-сосудистой патологии, здесь же автор приводит литературные данные о распределении введенных экзосом МСК в организме и о положительных и отрицательных результатах применения экзосом. Во второй главе дана характеристика экспериментальных групп, описана методика хирургического вмешательства на мышечке большеберцовой кости и методы исследования, включая выделение экзосом и статистическую обработку полученных количественных данных. В последующих главах приведены результаты собственных исследований. Представлено подробное описание структурной реорганизации миокарда при травме дистального отдела конечности и введении экзосом МСК, дана сравнительная оценка патоморфологических реакций миокарда правого и левого желудочков сердца.

Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам и логично вытекают из полученных результатов.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Основные положения и выводы диссертации достаточно полно представлены в 5 печатных работах, опубликованных в научной печати, из них 3 – в научных изданиях, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертационных исследований, в том числе входящих в базы данных Web of Science и Scopus.

Принципиальных замечаний по представленной диссертационной работе у меня нет, но в ходе изучения диссертационной работы возникли следующие вопросы:

1. В чем заключается патогенетическая связь между травмой ПМБК с развитием дистрофических и воспалительных изменений в миокарде? Какой механизм развития этих изменений в свете дистантного повреждения костной ткани?
2. Вы отмечаете, что «...в полостях желудочков 2 животных были найдены тромбы, иногда морфологически напоминающие таковые при эндокардите. Тромбы состояли из эритроцитов и фибрина с диффузной лейкоцитарной инфильтрацией, иногда имели своеобразный «хвост» по току крови...». В каких анатомических отделах сердца они формировались и каких размеров были? Как проводилась в этих случаях дифференциальная диагностика между септической природой тромба и реакцией миокарда на травму ПМБК? Проводилось ли в этих случаях гистологическое исследование других внутренних органов?
3. На основании каких полученных результатов Вы утверждаете, что «выявленные изменения миокарда правого и левого желудочков составляют структурную основу сердечной недостаточности в посттравматический период»? Какие признаки сердечной недостаточности Вы наблюдали в своем исследовании на экспериментальных животных в различные периоды наблюдения и присутствовали ли они у каждого из них?

**Заключение.** Диссертационная работа Кузькина Сергея Александровича на тему «Патоморфология миокарда при травме костной ткани и экспериментальном применении экзосом мультипотентных стромальных клеток», выполненная под руководством доктора медицинских наук Виталины Игоревны Майбородиной, является законченной научно-квалификационной работой, в

которой содержится решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для развития медицины (патологической анатомии, гистологии, хирургии и травматологии) – изучены патоморфологические реакции сердца на повреждение кости дистального отдела конечности и введение экзосом мультипотентных стромальных клеток в эксперименте.

По актуальности, научной новизне, методическому уровню, теоретической и практической значимости, обоснованности научных положений и выводов, полноте изложения материалов работы в научных печатных изданиях диссертационная работа Кузькина Сергея Александровича соответствует требованиям п. 9 – 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 01.10.2018 г. с изменениями от 26.05.2020 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автору следует присудить ученую степень кандидата медицинских наук по специальности 3.3.2 – патологическая анатомия (медицинские науки).

Официальный оппонент:

Заведующий патологоанатомическим отделением  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский исследовательский  
центр им. академика Е.Н. Мешалкина»  
Министерства здравоохранения  
Российской Федерации  
доктор медицинских наук



Кливер Евгений Эдуардович

Адрес учреждения:

630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновск  
тел.: 8 (383) 347-60-99  
e-mail: mail@meshalkin.ru  
http://meshalkin.ru

Подпись Кливера Евгения Эдуардовича  
заверяю, заместитель генерального директора  
Федерального государственного бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский исследовательский  
центр им. акаде  
Министерства з  
Российский Фед  
доктор медицин

кина»



Романов Александр Борисович

26 сентября 202