

Минздрав России

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России)

Московский тракт, д. 2, г. Томск, 634050
Телефон (3822) 53 04 23;
Факс (3822) 53 33 09
e-mail: office@ssmu.ru
http://www.ssmu.ru

ОКПО 01963539 ОГРН 1027000885251
ИНН 7018013613 КПП 701701001

№ _____
от _____

УТВЕРЖДАЮ

Ректор

д-р мед. наук, доцент

Е.С. Куликов

20 23



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Сибирский государственный медицинский
университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация «Молекулярные, клеточные и тканевые маркеры неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией» выполнена на кафедре морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

В период подготовки диссертации соискатель Стельмашенко Ангелина Игоревна обучалась в очной аспирантуре на кафедре морфологии и общей патологии с 01.09.2019 по 31.08.2022 и работает в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирском государственном медицинском университете» Министерства здравоохранения Российской Федерации в должности ассистента кафедры морфологии и общей патологии с 01.09.2022 по настоящее время (ранее лаборантом той же кафедры с 10.09.2020 по 31.08.2022).

В 2019 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности 30.05.01 Медицинская биохимия.

Диплом об окончании аспирантуры выдан в 2022 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Сибирским государственным медицинским университетом» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель – Суходоло Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, работает профессором кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Научный консультант - Чумакова Светлана Петровна, доктор медицинских наук, доцент, работает профессором кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Автор лично проводил исследования, выполнял сбор, анализ и статистическую обработку данных, описание и обсуждение полученных результатов. Автором подготовлены доклады, тезисы, рукописи статей, а также выпускная научно-квалификационная работа и научный доклад, представленный к защите.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Данные, проанализированные в ходе исследования, основаны на достаточном объеме клинического материала (интраоперационные биопсии от 27 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), осложненной ишемической кардиомиопатией (ИКМП) и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) II-III степени тяжести по NYHA (основная группа), а также 6 пациентов с ИБС без кардиомиопатии с ХСН II-III степени тяжести по NYHA (контрольная группа). Исследования проведены с разрешения локального этического комитета (протокол №7981 от 16.12.2019 г.). У всех испытуемых было получено информированное согласие на участие в исследовании.

Достоверность научного исследования подтверждена данными, полученными с использованием современных морфологических и молекулярных методов (иммуногистохимический анализ, иммунофлуоресцентный анализ, метод проточной цитофлуориметрии) и статистического анализа с использованием программ Microsoft Office Excel, Statistica 10.0.

Основные положения, выносимые на защиту, и выводы научно обоснованы и аргументированы, логически вытекают из диссертационной работы.

Материалом для исследования служили интраоперационные биопсии миокарда, среда DMEM/F12 с гентамицином, в которой в течение 24 часов инкубировался миокард, и периферическая венозная кровь в объеме 5 мл. Взятие биоптатов производилось из боковой, задней, передней стенки левого желудочка (ЛЖ), межжелудочковой перегородки, аневризмы ЛЖ, периинфарктной зоны ЛЖ, а также из ушка правого предсердия, объем взятого образца из каждой зоны не превышал 10 мм³. Взятие крови из локтевой вены пациентов производилось непосредственно перед операцией. Сравнительная морфологическая оценка миокарда проводилась на материале интраоперационных биопсий при помощи гистологических и

морфометрических методов исследования. Оценку иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих миокард, и описание структуры внеклеточного матрикса сердца проводились на материале интраоперационных биопсий методом иммуногистохимического анализа по экспрессии CD3⁺, CD8⁺, CD68⁺, CD163⁺, CD90⁺, альфа-гладкомышечного актина, коллагенов I и III типов, ММП-2 типа, ТИМП-1, как на мембране, так и в цитоплазме клеток. Оценка популяции тканевых макрофагов проводилась на материале интраоперационных биопсий методом иммунофлуоресцентного анализа по экспрессии CD80-, CD206- молекул на мембране клеток. Оценка субпопуляционного состава моноцитов проводилась в цельной крови методом проточной цитофлуориметрии по экспрессии CD14-, CD16- молекул на мембране клеток. Анализ цитокин-продуцирующей активности миокарда производился в среде DMEM/F12 с гентамицином, в которой в течение 24 часов инкубировались биопсии миокарда из ушка правого предсердия и перинфарктной зоны ЛЖ, методом мультиплексного иммуноферментного анализа. При работе с изображениями использовалась программа обработки графических изображений AxioVision, CarlZeiss (Германия) и ImageJ (США).

Исследования осуществлялись на базе кафедры морфологии и общей патологии (и.о. зав. кафедрой – д-р биол. наук, профессор И.В. Мильто) и Центральной научно-исследовательской лаборатории (руководитель – д-р мед. наук, профессор РАН Е.В. Удут) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, на базе лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины (заведующий – д-р биол. наук Ю.Г. Кжышковска) ФГАОУ ВО «Национального исследовательского Томского государственного университета» и в Центре иммунологии и клеточных биотехнологий «Балтийского федерального университета имени Иммануила Канта».

Научная новизна результатов исследования

Впервые проведена сравнительная оценка состояния миокарда контрольной группы пациентов со стенозирующим атеросклерозом коронарных артерий, но сохраненной фракцией выброса левого желудочка (более 40%) и конечно-систолическим индексом левого желудочка (менее 60 мл/м²), и пациентов с выраженными клиническими признаками ИКМП. Состояние миокарда пациентов обеих групп продемонстрировало одинаково направленные, но в разной степени выраженные морфологические изменения кардиомиоцитов и стромы миокарда, а также различия в выраженности перинуклеарного отека кардиомиоцитов, количества капилляров в миокарде и величины их просвета.

Впервые у пациентов с ИКМП проведена комплексная оценка маркеров матриксной среды миокарда (коллагенов I и III типов, матриксной металлопротеиназы 2 типа (ММП-2) и тканевого ингибитора металлопротеиназы 1 типа (ТИМП-1)). Установлено, что во ВКМ миокарда пациентов с ИБС без кардиомиопатии преобладает коллаген I типа, тогда как при клинических проявлениях кардиомиопатии – коллаген III типа. Установлена положительная взаимосвязь между экспрессией ММП-2 и

количеством иммунокомпетентных клеток CD68⁺ и CD3⁺ в миокарде пациентов с ИКМП.

Впервые сопоставлены данные проточной цитофлуориметрии моноцитов крови и результаты иммунофлуоресцентного анализа биоптатов миокарда у пациентов с ИКМП и пациентов с ИБС без кардиомиопатии. С целью изучения взаимосвязей между количеством CD68⁺CD206⁺ клеток (M2-макрофагов) и количеством классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов в крови.

Впервые *in vitro* проведена оценка цитокин-секреторной активности миокарда пациентов с ИКМП и с ИБС без кардиомиопатии, установившая группу наиболее активно секретируемых цитокинов в миокарде (IL-6, IL-8, GRO (онкоген, связанный с ростом опухоли), MCP-1 (моноцитарный хемотаксический протеин 1)). Показано 3-кратное повышение концентрации Fractalkine 3 ligand (Flt-3l) в миокарде пациентов с ИБС по сравнению с пациентами с ИКМП.

Получены данные о состоянии внеклеточного матрикса миокарда, о его взаимосвязи с иммунными клетками, в частности, тканевыми макрофагами сердца. Оценка цитокинового профиля миокарда дала возможность рассмотреть новые предикторы неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ИКМП. Это - провоспалительные цитокины (IL-8, GRO, G-CSF (колониестимулирующий фактор гранулоцитов) и RANTES (фактор, экспрессируемый и секретируемый нормальными Т-клетками при активации)).

Анализ и обобщение результатов различных морфологических методов исследования позволил получить новые данные о состоянии внеклеточного матрикса миокарда, его взаимосвязи с клеточным компонентом миокарда и циркулирующими иммунными клетками в крови, а оценка цитокинового профиля миокарда дала возможность рассмотреть потенциально новые предикторы неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией.

Практическая значимость исследования

Полученные результаты дополняют и конкретизируют существующие представления о патогенезе ремоделирования левого желудочка при ИКМП. Преобладание CD163⁺ макрофагов в миокарде пациентов с ИКМП, представляющих пул M2-макрофагов, подтверждает существующую гипотезу о M2-индуцированном течении ишемической кардиомиопатии. Обратная связь между числом субпопуляции классических CD14⁺⁺CD16⁻ моноцитов крови и тканевыми CD68⁺CD206⁺ макрофагами сердца дает возможность рассмотреть клеточный состав моноцитов периферической крови в качестве значимых критериев прогнозирования течения и прогрессии ИКМП.

Преобладание тканевых M2-макрофагов в миокарде, возрастание доли коллагена III типа над коллагеном I типа во внеклеточном матриксе сердца и повышение интрамиокардиальной концентрации провоспалительных цитокинов, в частности, IL-5, IL-6, IL-8 и MCP-1 у больных ИКМП могут

стать объектом для подбора оптимальных методов ее терапии и прогнозирования течения ишемической кардиомиопатии на дооперационном этапе, улучшая качество жизни больных сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Данные, полученные в ходе исследования будут полезны специалистам в области кардиологии и кардиохирургии для подбора оптимальной концепции лечения пациентов с ИКМП.

Ценность научных работ соискателя и полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, в том числе: 5 статей в изданиях, включенных в перечень рекомендованных ВАК при Минобрнауки России рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, из которых 3 работы, входят в базы цитирования Scopus и WoS, включая 1 статью в зарубежном журнале уровня Q2; 10 тезисов докладов на международных и всероссийских конференциях:

1. Беляева, С. А. Морфологическое сравнение биопсии и аутопсии миокарда больных ишемической кардиомиопатией / С. А. Беляева, А. И. Стельмашенко, С.С. Гутор, Д. В. Шарыш // Сборник научных трудов I Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. Я. Субботина. Под редакцией А.П. Надеева, Т.И. Поспеловой, П.Я. Елясина // Новосибирск, 2016. – С. 28-31.
2. **Стельмашенко, А. И.** Энергетический обмен кардиомиоцитов у больных ишемической кардиомиопатией / **А. И. Стельмашенко**, С. А. Беляева, Д. В. Шарыш, Л.В. Борисова, И.В. Суходоло // Сборник научных трудов I Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. Я. Субботина. Под редакцией А.П. Надеева, Т.И. Поспеловой, П.Я. Елясина // Новосибирск, 2016. – С. 171-174.
3. Беляева, С. А. Гистоплоидометрическое исследование ядер кардиомиоцитов у больных ишемической кардиомиопатией / С.А. Беляева, **А. И. Стельмашенко**, Д.В. Шарыш // Сборник научных трудов II Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых, посвященной памяти профессора М. А. Самотейкина. Под редакцией А.П. Надеева, Т.И. Поспеловой, П.Я. Елясина // Новосибирск, 2017. – С. 40-43.
4. **Стельмашенко, А. И.** Характеристика воспалительного инфильтрата в сердце у больных ишемической кардиомиопатией / **А.И. Стельмашенко**, С. А. Беляева, Д. В. Шарыш, С.С. Гутор // Сборник научных трудов II Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых,

- посвященной памяти профессора М. А. Самотейкина. Под редакцией А.П. Надеева, Т.И. Поспеловой, П.Я. Елясина // Новосибирск, 2017. – С. 236-238.
5. **Стельмашенко, А.И.** Фенотипирование воспалительной инфильтрации верхушечной аневризмы у больных ишемической кардиомиопатией / **А.И. Стельмашенко**, С.А. Беляева, Д.В. Шарыш // Сборник научных трудов Всероссийской итоговой 76-й студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова. Под редакцией Г.Э. Черногорюка // Томск, 2017. - С. 104-105.
 6. **Беляева, С.А.** Определение валидности до-операционной биопсии миокарда у больных ишемической кардиомиопатией по аутопсийному материалу / С.А. Беляева, **А.И. Стельмашенко**, Д.В. Шарыш // Сборник научных трудов Всероссийской итоговой 76-й студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова. Под редакцией Г.Э. Черногорюка // Томск, 2017. - С. 257-258.
 7. **Беляева, С.А.** Плоидометрия кардиомиоцитов у больных ишемической кардиомиопатией / С.А. Беляева, **А.И. Стельмашенко** // Сборник научных трудов Всероссийской итоговой 77-й студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова. Под редакцией Г.Э. Черногорюка // Томск, 2018. - С. 416-417.
 8. **Стельмашенко, А.И.** Взаимосвязь биохимических показателей с распространенностью и интенсивностью воспалительного инфильтрата в сердце у больных ишемической кардиомиопатией / **А.И. Стельмашенко**, С.А. Беляева // Сборник научных трудов Всероссийской итоговой 77-й студенческой научной конференции им. Н.И. Пирогова. Под редакцией Г.Э. Черногорюка // Томск, 2018. - С. 438-439.
 9. **Стельмашенко, А. И.** Распространение воспалительного инфильтрата в миокарде больных ишемической кардиомиопатией / **А.И. Стельмашенко**, С.А. Беляева, **А.И. Стельмашенко**, Д.В. Шарыш, С.С. Гутор // Морфология. - 2018. - Т. 153. - № 3. - С. 262. **Импакт фактор по РИНЦ 0,187**
 10. **Стельмашенко, А. И.** Морфологические и молекулярные предикторы повторного ремоделирования левого желудочка при ишемической кардиомиопатии / **А.И. Стельмашенко**, С.А. Беляева // Морфологический альманах имени ВГ Ковешникова. – 2019. – Т. 17. – №. 4. – С. 71-75. **Импакт фактор по РИНЦ 0,053**
 11. **Стельмашенко, А.И.** Роль макрофагов в ремоделировании левого желудочка у пациентов с ишемической кардиомиопатией / **А.И. Стельмашенко**, С.А. Беляева, М.А. Ракина, С.Л. Андреев // Морфологический альманах имени ВГ Ковешникова. – 2020. – Т. 18. - № 4. – С. 61-66. **Импакт фактор по РИНЦ 0,116**
 12. **Беляева, С.А.** Гистоплоидометрическое исследование ядер кардиомиоцитов в зонах левого желудочка с различной степенью

- нарушений локальной сократимости у больных с ишемической кардиомиопатией / С.А. Беляева, **А.И. Стельмашенко** // Морфология. - 2020. - Т. 157. - № 2-3. - С. 32-33. **Импакт фактор по РИНЦ 0,187**
13. Шипулин, В. М. Современные клиничко-фундаментальные аспекты в диагностике и лечении пациентов с ишемической кардиомиопатией (обзор) / В.М. Шипулин, А.С.Пряхин, С.Л. Андреев, В.В. Шипулин, С.П. Чумакова, Т.Р. Рябова, **А.И. Стельмашенко**, С.А. Беляева, Е.В.Лелик // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2021. – Т. 36. – №. 1. – С. 20-29. **Импакт фактор по РИНЦ 0,247**
14. **Стельмашенко, А.И.** Оценка состояния экстрацеллюлярного матрикса миокарда у пациентов с ишемической кардиомиопатией / **А.И. Стельмашенко**, С.А. Беляева, Р.М. Карпов, С.Л. Андреев // Морфологический альманах имени ВГ Ковешникова. – 2021. – Т. 19. - № 4. – С. 65-71. **Импакт фактор по РИНЦ 0,075**
15. **Stelmashenko, A. I.** Regionally Influenced Content of Selenium and Its Capacity under Postoperative Myocardial Remodeling in Cardiac Surgery Patients / **A. I. Stelmashenko**, S. A. Beliaeva, G. B. Slepchenko // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – IOP Publishing. - 2021. – V. 670. – №. 1. – P. 012027. **Импакт фактор Scopus (CiteScore) 0,8**
16. Chumakova, S. Galectin 3 and non-classical monocytes of blood as myocardial remodeling factors at ischemic cardiomyopathy / S. Chumakova, O. Urazova, V. Shipulin, M. Vins, A. Pryakhin, I. Sukhodolo, **A. Stelmashenko**, L. Litvinova, Yu. Kolobovnikova, E. Churina, V. Novitskiy // IJC Heart & Vasculature. – 2021. – Т. 33. – С. 100766. **Импакт фактор Scopus (CiteScore) 4,2**
17. Шипулин, В. М. Пациенты с благоприятным и неблагоприятным исходами кардиохирургической реваскуляризации: морфологические и морфометрические характеристики миокарда (клинические случаи) / В. М. Шипулин, С. Л. Андреев, А. А. Гарганеева, А. С. Пряхин, Р. М. Карпов // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. - 2022. Т.10. - № 4. – С. 46-50. **Импакт фактор по РИНЦ 0,454**
18. **Стельмашенко, А.И.** Цитокиновый профиль клеток миокарда при ишемической болезни сердца и ишемической кардиомиопатии / **А.И. Стельмашенко**, С.Л. Андреев, Л.С. Литвинова, В.В. Малащенко, Н.М. Тодосенко, Н.Д. Газатова, И.А. Хлусов, В.М. Шипулин // Цитология. – 2023. Т. 65. - № 5. – С. 461-474. **Импакт фактор по РИНЦ 0,526**

В статьях в полной мере опубликованы основные положения, выносимые на защиту.

**Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она
рекомендуется к защите**

Диссертация Стельмашенко Ангелины Игоревны на тему «Молекулярные, клеточные и тканевые маркеры неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией» соответствует специальности 1.5.22. Клеточная биология. Соискателем установлено, что прогрессирующее ремоделирование левого желудочка и неблагоприятный послеоперационный исход у пациентов с ИКМП сопровождается увеличением интрамиокардиальной концентрации интерлейкина-8, онкогена, связанного с ростом опухоли, колониестимулирующего роста гранулоцитов и фактора, экспрессируемого и секретлируемого нормальными Т-клетками при активации, а также высокой плотностью воспалительного инфильтрата и несостоятельностью ангиогенеза на фоне увеличения количества капилляров в миокарде.

Диссертация соответствует следующим пунктам паспорта специальности 1.5.22. Клеточная биология:

п. 1. Изучение закономерностей цито- и гистогенеза, строение и функции клеток и тканей.

п. 5. Исследование адаптации тканевых элементов к действию различных биологических, физических, химических и других факторов.

п. 7. Разработка экспериментальных моделей, методов цитологической диагностики, морфометрии, маркерной гисто- и цитохимии.

Диссертация Стельмашенко Ангелины Игоревны на тему «Молекулярные, клеточные и тканевые маркеры неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией» по специальности 1.5.22. Клеточная биология представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи – поиска маркеров для прогнозирования неблагоприятных исходов хирургического лечения ишемической кардиомиопатии и особенностей ее патогенеза, имеющей существенное значение в кардиологии и кардиохирургии. Работа полностью соответствует критериям п. 9 положения «О присуждении ученых степеней», предъявляемых к кандидатским диссертациям.

Диссертация «Молекулярные, клеточные и тканевые маркеры неблагоприятных исходов хирургического лечения пациентов с ишемической кардиомиопатией» Стельмашенко Ангелины Игоревны рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Заключение принято на заседании кафедры морфологии и общей патологии.

Присутствовали на заседании 11 чел. Результаты голосования: «ЗА» – 11 чел., «ПРОТИВ» – 0 чел., «ВОЗДЕРЖАЛИСЬ» – 0 чел., протокол № 8 от 30 мая 2023.

И.о. заведующего кафедрой морфологии и общей патологии,
доктор биологических наук, доцент

15.06.2023


Иван Васильевич Мильто

ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ
Проректор по учебной работе
А.О. Окорочков
15.06.2023