

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук, Безбородкиной Натальи Николаевны на диссертационную работу Сухачевой Татьяны Владимировны на тему: «Морфология ремоделирования миокарда межжелудочковой перегородки при гипертрофической кардиомиопатии и тетраде Фалло», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.22 – Клеточная биология.

Актуальность темы диссертационного исследования

На протяжении последних десятилетий сердечно-сосудистые заболевания остаются основной причиной смертности во всем мире. Существенную долю среди них занимают кардиомиопатии различного генеза и врожденные пороки сердца. Универсальной реакцией сердца на патологические и гемодинамические воздействия является гипертрофия (утолщение) стенок этого органа, однако механизмы её формирования могут различаться в зависимости от причины возникновения. Гипертрофия миокарда преимущественно обусловлена увеличением размеров кардиомиоцитов, повышением степени их плоидности, а также возрастанием доли соединительной ткани. Возможность гиперплазии кардиомиоцитов за счет незначительной доли клеток, способных к пролиферации, и/или активации немногочисленных резидентных стволовых клеток-предшественников кардиомиоцитов остается темой научных дискуссий. Очевидно, что понимание особенностей патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний имеет не только фундаментальное значение для биологии и медицины, но и необходимо для выбора оптимального алгоритма лечения, способного улучшить качество жизни пациентов и увеличить продолжительность их жизни.

Диссертационная работа Сухачевой Татьяны Владимировны посвящена сравнительному исследованию морфофункциональных особенностей гипертрофированного миокарда межжелудочковой перегородки сердца при двух типах сердечно-сосудистой патологии — гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП) и тетраде Фалло (ТФ), и ее актуальность не вызывает сомнений.

Оба этих заболевания могут проявляться в виде схожих симптомов (одышка, быстрая утомляемость, цианоз), приводить к развитию сердечной недостаточности и

аритмиям, но пути возникновения гипертрофии у них различаются. При ГКМП гипертрофический процесс связан прежде всего с первичной патологией саркомерного аппарата, а именно, с мутацией генов саркомерных белков, вызывающих аномальное развитие кардиомиоцитов желудочков и межжелудочковой перегородки, которые гипертрофируются для поддержания необходимой сократительной функции сердца. В случае тетрады Фалло гипертрофия миокарда правых отделов сердца вызвана анатомией этого врожденного порока сердца и усугубляется воздействием гипоксемии и гемодинамической перегрузкой миокарда.

Несмотря на довольно ясное представление о триггерах гипертрофии при ГКМП и ТФ, механизмы дальнейшего развития и ограничения гипертрофического процесса изучены недостаточно.

Существенное внимание в работе Сухачевой Т.В. уделено проблеме взаимосвязи между причиной гипертрофического роста и характером изменений морфологических параметров кардиомиоцитов при ГКМП и тетраде Фалло. Сопоставление этих двух состояний позволило диссертанту исследовать как общие, так и специфические механизмы ремоделирования миокарда.

Особую актуальность диссертации Сухачевой Т.В. придаёт исследование возрастных аспектов ремоделирования. Автором проанализирован материал как детей, так и взрослых пациентов, что позволяет сопоставить процессы нормального роста и дифференцировки кардиомиоцитов с изменениями, возникающими при патологической гипертрофии.

Предложенные диссертантом оптимальные критерии оценки изменения морфологических параметров миокарда при этих патологиях могут быть использованы для прогнозирования течения послеоперационного периода и оценки риска рецидива развития гипертрофии межжелудочковой перегородки.

Учитывая вышесказанное, актуальность диссертационного исследования Сухачевой Т.В. и его практическое значение для здравоохранения не вызывает сомнений.

Степень обоснованности и достоверности научных результатов

Выносимые на защиту научные положения и выводы диссертационного исследования основаны на тщательном анализе собственных результатов, полученных с помощью широкого спектра современных методов клеточной биологии. Важным аспектом работы является использование адекватной статистической обработки

полученных данных: для оценки распределения применялись критерии Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова, для межгрупповых сравнений — параметрические и непараметрические методы, для корреляционного анализа — коэффициент Спирмена, а также применялась множественная линейная регрессия.

Научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации хорошо аргументированы, обоснованы и достоверны. Выводы диссертации логично вытекают из содержания работы, практические рекомендации сформулированы кратко и емко. Основные положения работы имеют фундаментальное и практическое значение.

По теме диссертации опубликовано 90 научных работ, из них 26 статей: 11 в журналах ВАК по специальности 1.5.22 – Клеточная биология, 2 — в международных высокорейтинговых журналах, остальные в журналах ВАК, которые входят в базы RSCI и Scopus по смежным специальностям: 3.3.2 – Патологическая анатомия и 3.1.20 – Кардиология. Тем самым результаты диссертации прошли квалифицированную внешнюю экспертизу, что свидетельствует о принципиальной научной новизне и значимости полученных результатов.

Публикации полностью отражают результаты диссертационного исследования. Личный вклад автора в планирование и проведение исследований, обработку полученных данных и написание статей, не вызывает сомнения.

Кроме того, основные результаты и положения диссертационного исследования Сухачевой Т.В. были многократно апробированы на всероссийских и международных научных мероприятиях в формате устных и постерных докладов.

Полученные автором диссертации данные являются приоритетными, носят фундаментальный характер, расширяют современные представления о механизмах ремоделирования миокарда при патологии и предлагают новые подходы к лечению.

Научная новизна результатов диссертационной работы

Диссертант поставил перед собой цель провести анализ динамики морфофункциональных изменений межжелудочковой перегородки сердца в условиях её ремоделирования при гипертрофии разного генеза. Заявленная цель и вытекающие из нее задачи исследования определяют не только актуальность работы, но и новизну полученных результатов.

В ходе выполнения диссертационного исследования Сухачева Т.В. проводит тщательный анализ морфологических параметров кардиомиоцитов пациентов с ГКМП

и тетрадой Фалло, и убедительно показывает, что при заболеваниях разного генеза задействованы разные клеточные механизмы развития гипертрофии миокарда.

Впервые в диссертационной работе представлено сравнительное морфологическое исследование гипертрофированного миокарда межжелудочковой перегородки у детей и взрослых пациентов с ГКМП и тетрадой Фалло. С помощью методов световой, электронной и флуоресцентной микроскопии выявлены закономерности морфологических изменений миокарда межжелудочковой перегородки, которые являются ключевыми для развития ее гипертрофии у детей и взрослых пациентов с ГКМП и тетрадой Фалло.

Впервые при гипертрофии миокарда разного генеза определена роль гипертрофии и гиперплазии кардиомиоцитов межжелудочковой перегородки совокупно с другими факторами их ремоделирования — увеличением ploидности кардиомиоцитов, утратой в них миофибрилл, изменением локализации щелевых контактов, экспрессией предсердного натрийуретического пептида.

Впервые выявлены различия в механизме увеличения ploидности за счет полиploидии одноядерных кардиомиоцитов в миокарде пациентов с ГКМП, и за счет увеличения доли многоядерных кардиомиоцитов у пациентов с тетрадой Фалло.

Впервые продемонстрировано, что у пациентов с ГКМП экспрессия предсердного натрийуретического пептида является одним из факторов, регулирующих перестройку миокарда, в то время как у пациентов с тетрадой Фалло этот фактор роли не играет.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Диссертационная работа Сухачевой Т.В. представляет собой обширное многостороннее исследование. Ее теоретическая значимость определяется комплексным подходом к изучению структурной организации кардиомиоцитов на нескольких уровнях — от морфометрических характеристик до ультраструктуры, ploидности, межклеточных контактов, экспрессии ANP, пролиферативной активности и характеристик клеток-предшественников.

Обоснование диссертантом нового положения о наличии триггерного механизма «переключения» от онтогенетического роста кардиомиоцитов (в группе сравнения) к гипертрофии, вызванной гемодинамической перегрузкой и гипоксией (при тетраде Фалло) до агрессивных форм гипертрофии на фоне сохранения морфологических признаков незрелости миокарда (при ГКМП) имеет важное фундаментальное значение.

Особого внимания, с точки зрения фундаментальной науки, заслуживает также выявление различий в характере увеличения содержания ДНК в кардиомиоцитах при ГКМП и ТФ: при ГКМП оно преимущественно связано с полиплоидизацией одноядерных кардиомиоцитов, тогда как при ТФ — с увеличением доли многоядерных клеток.

Большой теоретический интерес представляет предложенный автором комплекс параметров, позволяющий охарактеризовать ремоделирование миокарда: размеры и плоидность кардиомиоцитов, содержание в них миофибрилл, локализация Sx43-содержащих щелевых контактов, экспрессия ANP, пролиферативная активность, наличие c-kit-позитивных клеток, ультраструктурные изменения и объём интерстициальной ткани.

Диссертационное исследование Сухачевой Т.В. в целом расширяет представления о клеточной организации гипертрофического миокарда, а формулировка основных положений диссертации, характеризующих сходство и различия морфологических особенностей реализации гипертрофии миокарда у пациентов с ГКМП и тетрадой Фалло, способствует решению актуальной научной проблемы, которая имеет важное значение как для клеточной биологии, так и для фундаментальной медицины.

Практическая значимость диссертации заключается, прежде всего, в систематизации клинико-морфологических критериев ремоделирования миокарда. Такой комплексный подход для оценки компенсаторно-приспособительных изменений миокарда у больных ГКМП и ТФ может помочь врачам-специалистам при диагностике, выборе терапии и прогнозировании рисков рецидивов этих заболеваний. Предложенный диссертантом алгоритм морфологического описания биоптатов будет интересен врачам-патологоанатомам, изучающим сердечно-сосудистые патологии, а также студентам и ординаторам медицинских ВУЗов.

Следует отметить, что практические рекомендации, сформулированные в диссертации Сухачевой Т.В., в настоящее время уже успешно применяются в отделении патологической анатомии в ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава РФ при исследовании операционного материала.

Оценка объема, структуры и содержания диссертации

Диссертация изложена на 428 страницах машинописного текста по традиционной схеме и состоит из введения, 4-х глав (обзор литературы, материалы и методы,

результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение), выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Все разделы логично связаны друг с другом. Название диссертации соответствует поставленной цели и задачам.

Работа написана хорошим научным языком, иллюстрирована большим количеством рисунков — 120 микрофотографиями высокого качества и графиками; содержит 4 таблицы. Список литературы включает 762 источника, в том числе 111 отечественных и 651 зарубежных.

Во **Введении** автор последовательно и логично обосновывает актуальность изучаемой научной проблемы, формулирует цель и задачи работы, отмечает новизну и научно-практическую значимость своего исследования, приводит данные об апробации результатов, а также сведения о структуре работы и об основных публикациях по теме диссертации.

В главе **«Обзор литературы»** проанализированы литературные данные классических и современных исследований, посвященных изучению морфологии миокарда в онтогенезе и при сердечно-сосудистых патологиях. Большой раздел этой главы посвящен описанию современных подходов к изучению механизмов ремоделирования сердца молекулярно-генетическими методами, рассматриваются основные биомаркеры оценки пролиферативного и регенераторного потенциала миокарда. Приведены данные о таких компенсаторно-приспособительных изменениях миокарда в условиях патологии, как гипертрофия, полиплоидия и пролиферация кардиомиоцитов, активация стволовых клеток. Значительная часть обзора посвящена описанию патоморфологических методик, используемых в настоящем исследовании для оценки состояния миокарда — анализу размера и плоидности кардиомиоцитов, степени их дифференцировки по содержанию миофибрилл, оценке локализации коннексин 43-содержащих щелевых контактов, экспрессии предсердного натрийуретического пептида, активации пролиферации кардиомиоцитов.

Отдельное внимание уделено клинико-морфологическим проявлениям ГКМП и ТФ. Приведены исчерпывающие литературные данные, касающиеся описания генетических факторов и патогномоничных признаков изменения гемодинамики сердца при этих заболеваниях.

Несомненным преимуществом диссертационного исследования является значительный объем исследованного материала и методическое разнообразие, которые подробно описаны в разделе **«Материалы и методы исследования»**. В работе были использованы гистологические, морфометрические, иммуногистохимические, цитофлуорометрические методики, методы конфокальной и электронной микроскопии. Также в этом разделе представлена подробная клиническая характеристика пациентов с ГКМП, с тетрадой Фалло и лиц группы сравнения без сердечно-сосудистой патологии.

Несмотря на то, что основные методические приемы описаны информативно и тщательно, к некоторым из них есть вопросы. В основном они касаются деталей вычислений и методических характеристик, отсутствие которых затрудняет понимание ряда результатов:

*на стр. 117-118 в описании морфометрического исследования **размеров** кардиомиоцитов (КМЦ) не говорится о каких параметрах идет речь. Что измеряли? Далее в разделе «Результаты и обсуждение» приведены данные о диаметре КМЦ, однако остается не ясным каким образом он был измерен. Известно, что КМЦ имеют неправильную форму и диаметр на разных участках клетки может отличаться.*

стр. 119, в подписи к рисунку 2.1. упоминается «световая микроскопия», но не отмечено какой микроскоп был использован, а на самой микрофотографии отсутствует масштабная линейка.

на стр. 120 сказано, что «для оценки плоидности клеток использовали только целые ядра». Для оценки плоидности КЛЕТОК, нужны не только целые ядра, но и неповрежденные клетки. Их целостность тоже контролировалась?

*стр. 120, «В многоядерных миоцитах вычисляли **суммарную плоидность** всех ядер, содержащихся в одной клетке.» Действительно вычисляли и рассматривали как отдельный параметр или подразумевается среднее значение плоидности КМЦ, которое обсуждается далее на стр. 159?*

в разделе не отмечено с помощью каких микроскопов проводилась оценка локализации Sx43+-целевых контактов и полуколичественная оценка доли КМЦ с ANP+-гранулами в миокарде.

При таком обширном объеме материала представляется абсолютно обоснованным объединение результатов и обсуждения в единую главу **«Результаты собственных исследований и их обсуждение»**, что допускается требованиями, предъявляемыми к

оформлению докторских диссертаций. *Однако, несколько странно в заголовке выглядит словосочетание «собственных исследований», поскольку и так понятно, что диссертант защищает свои, в том числе полученные в соавторстве результаты, а не чьи-то чужие.*

Данная глава состоит из нескольких крупных разделов, построенных по единому принципу, в них обсуждаются изменения нескольких морфологических признаков миокарда у детей и взрослых лиц группы сравнения, пациентов с ГКМП и тетрадой Фалло, в конце каждого раздела приведено их обсуждение и сравнение с данными из литературных источников. В этой главе собраны все достоверные клинкоморфологические корреляции в каждой из групп, соответствующие таблицы приведены в разделе Приложение. **Первая часть** главы посвящена морфометрическому исследованию размера кардиомиоцитов и содержания в них миофибрилл. На основании детального анализа автор установил значительную гипертрофию кардиомиоцитов у пациентов с ГКМП и тетрадой Фалло по сравнению с группой сравнения, более выраженную у пациентов с ГКМП, чем при тетраде Фалло. **Во второй части** главы проанализировано увеличение плоидности кардиомиоцитов при ГКМП и тетраде Фалло по сравнению с группой сравнения, и выявлена важная закономерность увеличения содержания ДНК при ГКМП преимущественно в одноядерных кардиомиоцитах, в то время как для тетрады Фалло более характерно образование многоядерных кардиомиоцитов. **В третьей и четвертой частях** описано изменение экспрессии и локализации щелевых контактов и предсердного натрийуретического пептида в кардиомиоцитах, при ГКМП выявлена корреляционная связь экспрессии предсердного натрийуретического пептида с другими морфологическими параметрами, в отличие от тетрады Фалло. **Пятая и шестая части** главы посвящены исследованию активации пролиферативного и регенераторного потенциала кардиомиоцитов при ГКМП и тетраде Фалло. Вызывают интерес значительная вариабельность полученных результатов, причем при ГКМП зарегистрирован наибольший вклад гиперплазии в гипертрофию миокарда межжелудочковой перегородки. **В седьмом разделе** главы обсуждаются ультраструктурные изменения кардиомиоцитов при ГКМП и тетраде Фалло. Раздел подробно иллюстрирован, большинство описанных изменений носит стереотипный характер и описывает признаки, характерные для гипертрофированных кардиомиоцитов с элементами частичной дедифференцировки и дистрофическими изменениями.

Характерным для ГКМП является феномен disarray с соответствующими изменением организации всех субструктур кардиомиоцитов. **В последнем разделе** главы описаны преобразования интерстициальной ткани при ГКМП и тетраде Фалло, наиболее выраженные изменения обнаружены у взрослых пациентов с тетрадой Фалло.

Диссертация заканчивается разделом **«Заключение»**, в котором собраны и проанализированы все ключевые корреляционные связи между морфологическими и клиническими параметрами миокарда у детей и взрослых лиц группы сравнения, пациентов с ГКМП и тетрадой Фалло. Приведены схематические изображения корреляционных матриц, которые позволяют сделать вывод о принципиальном сходстве взаимодействий исследованных параметров у детей трех групп и значительные отличия – у взрослых пациентов с ГКМП от группы сравнения и пациентов с тетрадой Фалло. Таким образом, показано, что гипертрофия миокарда при ГКМП развивается по особым правилам, особенно у взрослых пациентов, и не похожа на ускоренную дифференцировку, характерную для гипертрофии при тетраде Фалло. Кроме того, в этом же разделе приведены результаты сравнительного анализа морфологических параметров при ГКМП и тетраде Фалло. Подтвержден достоверно более выраженный гипертрофический ответ кардиомиоцитов на гемодинамическую перегрузку миокарда межжелудочковой перегородки, особый характер увеличения плоидности при ГКМП, сохранение экспрессии предсердного натрийуретического пептида, аномальное латеральное расположение щелевых контактов, сохранение регенеративной активности и гиперплазии кардиомиоцитов у взрослых пациентов с ГКМП, по сравнению с тетрадой Фалло. Эти изменения приводят к значительной гипертрофии межжелудочковой перегородки при ГКМП по сравнению с тетрадой Фалло.

По результатам диссертационной работы автором сделано 10 выводов, сформулированы практические рекомендации, отражающие основное содержание проведенного исследования.

Диссертация соответствует требованиям ГОСТ. Автореферат диссертации, изложенный на 48 страницах, отражает суть работы и соответствует требованиям ВАК РФ. В автореферат вошли основные научные результаты исследования и выводы.

Личный вклад диссертанта

Сухачева Т.В. принимала непосредственное участие во всех этапах диссертационного исследования. Ею определены цели и задачи исследования, проведен

сбор и обработка биологических образцов, приготовлены микропрепараты. Автором проведены морфологические исследования с использованием методов световой и электронной микроскопии, морфометрической оценки, при помощи иммуногистохимического исследования выявлены антигены и проведена оценка препаратов с привлечением методов конфокальной микроскопии. Полученные результаты обработаны с использованием методов параметрической и непараметрической статистики, подготовлены таблицы, графики, гистограммы, иллюстрирующие результаты. Данные сопоставлены с результатами клинического обследования пациентов, полученными из историй болезни, хранящихся в архиве ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» МЗ РФ.

В целом диссертационная работа выполнена на очень достойном научном уровне и заслуживает высокой оценки, тем не менее при ее прочтении возникли некоторые вопросы дискуссионного характера:

1) В работе приведены ссылки на статьи Анверсы и Кайстуры с соавторами, которые позиционируют высокую пролиферативную активность зрелого миокарда. Например, на стр. 50: «В исследованиях последних десятилетий в сердце млекопитающих обнаружены резидентные стволовые ..., способные к возобновлению клеточного цикла в зрелом миокарде (Anversa P. et al., 2006, 2013; Kajstura J. et al., 2010, 2012).»; на стр. 80: «... попытки подсчёта количества пролиферативно-активных КМЦ с использованием разных подходов... приводят к очень вариабельным результатам, содержание таких КМЦ составляет от 41 (Beltrami A.P. et al., 2001) до 3400 клеток на 106 КМЦ (Kajstura J. et al., 2012). *Значительное расхождение количественных данных*, очевидно, связано с разными способами оценки результатов исследований или объясняется индивидуальными различиями пациентов».

Однако еще в 2014 году редакторы журнала The Lancet опубликовали т.н. «Выражение обеспокоенности», а после дальнейшего расследования, заявили, что «лабораторные исследования, проведенные Пьеро Анверсой и его коллегами в Гарварде, нельзя считать надежными», в частности, данные по валидации c-kit клеток. Другие исследовательские группы также ставили под сомнение достоверность регенеративного потенциала этих клеток, поскольку нескольким группам не удалось воспроизвести данные, полученные доктором Анверсой и его коллегами. Поэтому «*значительное*

расхождение количественных данных», связано с некорректно проведенным («грязным») экспериментом и подтасовкой факторов, что было доказано в ходе судебных разбирательств.

Хотелось бы знать, как диссертант оценивает роль резидентных стволовых-клеток предшественников в регенерации миокарда и почему не рассматривает публикации упомянутых авторов с критической точки зрения?

2) Второй вопрос касается исследования миофибрилл КМЦ.

Для их оценки был использован полуколичественный. Почему нельзя было применить гораздо более информативный и точный количественный метод — подсчет числа миофибрилл, измерение занимаемой ими площади?

В диссертации говорится о том, что «в зависимости от фиксации зоны выглядят оптически пустыми...». Влияют ли на количество миофибрилл фиксация препаратов, толщина гистологического среза, окрашивание?

Потеря МФ может быть связана не только с дедифференцировкой, но и с дистрофией, ишемией, возможными с «артефактами» фиксации. На каком основании утверждается, что в уменьшении МФ ведущую роль играет дедифференцировка КМЦ?

3) Какая формула была использована для определения объема интерстициальной ткани?

4) Какова природа электронно-плотных гранул, регистрируемых вблизи цистерн аппарата Гольджи в околядерной зоне КМЦ правого желудочка у пациентов с ГКМП?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Сухачевой Татьяны Владимировны «Морфология ремоделирования миокарда межжелудочковой перегородки при гипертрофической кардиомиопатии и тетраде Фалло», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой. На основании проведенных автором исследований разработаны новые теоретические положения и практические рекомендации, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне, с использованием широкого круга подходов и заслуживает высокой оценки. Сделанные замечания не затрагивают существа работы, а вопросы носят дискуссионный характер.

Диссертация Сухачевой Татьяны Владимировны имеет несомненное

фундаментальное и практическое значение для клеточной биологии, гистологии, патологической анатомии, сердечно-сосудистой хирургии; открывает широкие перспективы для дальнейшего сравнительного изучения морфологии миокарда при разных формах сердечно-сосудистой патологии на основании предложенных методических подходов.

По актуальности, новизне, объему проведенных исследований, обоснованности научных положений и выводов диссертационная работа Татьяны Владимировны Сухачевой «Морфология ремоделирования миокарда межжелудочковой перегородки при гипертрофической кардиомиопатии и тетраде Фалло» полностью соответствует требованиям п. 9 и п. 14 Положения о присуждении ученых степеней от 24 сентября 2013 г. № 842 (в актуальной редакции), утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а автор Т.В. Сухачева заслуживает присвоения искомой степени по специальности 1.5.22 – Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Зоологического института
Российской академии наук,
доктор биологических наук

02 сентября 2026 г.



Безбородкина Н.Н.

Адрес: 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Зоологический институт
Российской академии наук.
тел.: 8 (812) 328-03-11
e-mail: Natalia.Bezborodkina@zin.ru, natalia_bezborodkina@mail.ru
сайт организации: <https://www.zin.ru/institute.html>