

ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора медицинских наук
Сапелкина Сергея Викторовича на диссертационную работу
Мжаванадзе Нины Джансуговны «Гемостатическое звено эндотелиальной
дисфункции при развитии осложнений у пациентов с периферическим
атеросклерозом», представленную к защите на соискание ученой степени
доктора медицинских наук по специальности
3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия (медицинские науки)**

Актуальность темы диссертационной работы

Облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей занимает важное место в структуре атеросклеротического поражения наряду с ишемической болезнью сердца и ишемией головного мозга. Различные виды лечения, включая консервативное, эндоваскулярные и открытые оперативные вмешательства, способны улучшить качество жизни и прогноз заболевания. Однако у значительного количества пациентов после проведенного лечения отмечаются прогрессирование атеросклеротического процесса, развитие тромбозов и рестеноза в зоне вмешательств, что в итоге приводит к ухудшению течения заболевания, повышению инвалидности и летальности.

Спустя несколько месяцев или лет после шунтирующих операций и/или ангиопластики и стентирования артерий может возникать повторное стенозирование, рестеноз, либо окклюзия зоны артериальной реконструкции. Причин для развития рестеноза может быть несколько. Одна из ведущих причин - гиперплазия интимы. Тем не менее, важную роль даже в отсутствие выраженной неоинтимальной гиперплазии может играть ремоделирование сосудистой стенки.

Другим значимым осложнением является тромбоз зоны реконструкции, в патогенезе которого задействованы различные молекулярно-клеточные механизмы, включая дисфункцию эндотелия и нарушения со стороны системы гемостаза.

Эндотелиальные клетки в физиологических условиях способны поддерживать стойкий гомеостаз в отношении атромбогенности внутренней выстилки сосудов за счет экспрессии антикоагулянтных факторов, включая оксид азота (NO), тромбомодулин, гепарин, простагландины и другие,

рецепторы к протеину С, в норме поддерживающих атромбогенность интимы. В патологических условиях эндотелий может выделять различные гемостатические (прокоагулянтные) вещества, связанные с процессами воспаления и гиперкоагуляции. Потеря нормальной структуры и функции эндотелия приводит к развитию хронических изменений, ассоциированных с прогрессированием атеросклероза, тромбозом, рестенозом, диабетом.

Поиск патогенетических механизмов развития рестеноза, тромбоза и прочих осложнений атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей, а также потенциальных способов предотвращения развития вышеуказанных состояний является объектом пристального интереса сердечно-сосудистых хирургов. Все это определяет актуальность тщательного изучения гемостатического звена эндотелиальной дисфункции при развитии осложнений у пациентов с заболеваниями периферических артерий

Научная новизна исследования и полученных результатов

Научная новизна заключается в том, что в работе впервые было проведено комплексное изучение метаболической и миграционной активности культуры эндотелиальных клеток, оценка изучение показателей гемостатического звена дисфункции эндотелия, таких как фактор FVIII, фактор фон Виллебранда, ингибитор активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), растворимые эндотелиальные рецепторы протеина С (sEPCR), метаболиты оксида азота (NO), на первичной культуре HUVEC на фоне воздействия ключевых материалов, применяемых в реконструктивной артериальной хирургии – политетрафторэтилен (ПТФЭ), полиэтилентерефталат (ПЭТ) и нитинол.

Кроме того, проведена интегральная оценка вышеуказанных параметров гемостатического звена дисфункции эндотелия у больных с атеросклерозом артерий нижних конечностей в зависимости от уровня поражения артерий и стадии заболевания, сопутствующей патологии, вида проведенного лечения – консервативного, эндоваскулярного или открытого хирургического, что способствовало разработке прогностических моделей развития

неблагоприятных исходов, обладающих высокими чувствительностью и специфичностью.

Степень обоснованности и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Все приведенные выводы и рекомендации в диссертационной работе обоснованы, логично вытекают из полученных результатов экспериментальной части исследования на культурах эндотелиоцитов и клинического исследования, проведенного с участием 167 пациентов с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей.

В процессе проведения исследования были использованы современные, соответствующие поставленным целям и задачам лабораторно-инструментальные и клинические методы исследования, в том числе оценка единичных нуклеотидных замен. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью программы STATISTICA 13.00.

Это позволило Мжаванадзе Н.Д. на основании установленных статистических различий получить достоверные результаты и сделать обоснованные выводы, а также сформулировать практические рекомендации по обследованию пациентов с заболеваниями периферических артерий и прогнозированию его осложнений.

Выводы и практические рекомендации соответствуют поставленным целям и задачам исследования и логично вытекают из полученных автором диссертации результатов. Материалы исследования внедрены в клиническую практику в рамках лечебной работы отделений сосудистой хирургии ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» и ГБУ РО «Областная клиническая больница». Выводы и результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной хирургии и лучевой диагностики ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России.

Материалы диссертации в полной мере отражены в автореферате и опубликованы в 32 печатных работах, в том числе 13 статей в рецензируемых

научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 8 – в изданиях, входящих в международную цитатно-аналитическую базу данных Scopus. По результатам работы изданы 1 научная монография, 1 учебное пособие, получено 3 патента РФ на изобретение, внедрено 2 рационализаторских предложения.

Научная и практическая значимость полученных результатов

Значимость научной работы заключается в том, что в рамках экспериментальной части исследования проведена *in vitro* оценка миграционной и метаболической активности эндотелиоцитов HUVEC в отношении фактора FVIII, фактора фон Виллебранда, PAI-1, sEPCR, антиген фактора фон Виллебранда, метаболитов NO, в том числе при воздействии основных материалов, применяемых в реконструктивной артериальной хирургии - ПТФЭ, ПЭТ, нитинола; проведена сравнительная оценка цитотоксичности вышеуказанных материалов по отношению к культуре HUVEC.

Значимость полученных результатов состоит в том, что в рамках клинической части диссертационного исследования у больных с периферическим атеросклерозом выполнена интегральная оценка гемостатических маркеров дисфункции эндотелия в зависимости от характера и протяженности поражения артериального русла, тяжести ишемии, наличия сопутствующей патологии на фоне различных видов лечения, от консервативного до выполнения открытых шунтирующих операций. Автором разработаны прогностические модели развития неблагоприятных исходов в зависимости от активности и уровня показателей коагуляционного звена гемостаза при дисфункции эндотелия и наличия сопутствующей патологии, что может использоваться сердечно-сосудистыми хирургами, ангиологами и кардиологами при обследовании и лечении больных в рутинной практике.

Полученные результаты, выводы и практические рекомендации имеют непосредственный выход в работу лабораторий, специализирующихся на культуральной работе, а также в клиническую практику. Выполненный объем

исследования, достоверность полученных результатов, новизна и их практическая значимость не вызывают сомнения в ценности данного труда.

Содержание работы, ее завершенность и оформление

Диссертация представлена на 217 страницах текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов клинического, экспериментального исследований и их обсуждения, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 63 рисунками, 19 таблицами, 5 клиническими примерами, в полной мере демонстрирующие основные результаты исследований. Список литературы содержит 261 источник, из них 41 отечественных и 220 зарубежных авторов.

Во введении автор работы определяет актуальность темы, формулирует цель исследования и выстраивает задачи диссертационного исследования. Представленный во введении материал отражает научную новизну и практическую значимость диссертационной работы. Приводятся сведения об апробации работы на российских и международных научно-практических конференциях и внедрению результатов в практическое здравоохранение и учебный процесс.

Первая глава содержит обзорный анализ данных литературы, который в полной мере раскрывает актуальность темы и дает оценку текущей ситуации по разработанности темы развития осложнений атеросклеротического поражения артерий нижних конечностей и роли эндотелиальной дисфункции в развитии последних. Кроме того, отмечается важность и возможность активного использования *in vitro* моделей изучения патогенеза атеросклероза и нарушения функции эндотелия на примере культур клеток. Широко представлены как российские, так и зарубежные современные исследования, посвященные этим вопросам.

Вторая глава посвящена подробному изложению материалов и методов исследования. Автор подробно описывает методики, которые применялись в

рамках экспериментальной работы, в частности, выделения первичных культур HUVEC, оценки метаболической (митохондриальной) и миграционной активности первичной культуры эндотелиоцитов при воздействии материалов для артериальных реконструктивных вмешательств, исследования уровня и активности гемостатических маркеров дисфункции эндотелия *in vitro*, экспрессии маркеров гемостатического звена дисфункции эндотелия в культуре HUVEC методом вестерн-блот. Далее уделено важное внимание описанию материалов и методов клинической части исследования: физикальных и инструментальных методов исследования, лабораторных методик по изучению гемостатических маркеров дисфункции эндотелия.

Третья глава диссертационного исследования представляет результаты экспериментальной части работы, в частности, различия в метаболической и миграционной активности первичной культуры эндотелиальных клеток при воздействии ПТФЭ, ПЭТ и нитинола, уровнях гемостатических маркеров дисфункции эндотелия. Выявленное в рамках *in vitro* исследования снижение миграционной активности первичной культуры эндотелиоцитов при инкубации клеток с ПЭТ можно рассматриваться как возможный неблагоприятный фактор в отношении потенциальной эндотелизации сосудистых протезов из ПЭТ *in vivo*. При этом одновременно предполагается вероятный благоприятный эффект в отношении развития рестеноза, что имеет большие перспективы для дальнейших исследований. Отсутствие значимого влияния на миграционную активность культуры эндотелиоцитов при воздействии ПТФЭ и нитинола предполагает отсутствие у них неблагоприятного влияния на процессы эндотелизации протезов. Это может играть важную роль в выборе оптимального способа реваскуляризации у пациентов с различной степенью выраженности эндотелиальной дисфункции и тяжести поражения сосудов (в случае экстраполяции результатов экспериментальной части исследования на клиническую практику). Понимание особенностей влияния материала синтетических протезов и стентов на функцию клеток сосудистой стенки, в частности, эндотелиоцитов, может послужить основанием для поиска

оптимальных материалов и способов покрытия, что позволит снизить количество осложнений, включая рестеноз и тромбоз.

Во четвертой главе отражены результаты клинической части исследования и их обсуждение. Подробно представлена характеристика исследуемых лиц, дано описание стадиям заболевания и уровню поражения артерий нижних конечностей, сопутствующей патологии. Представлен тщательно проведенный анализ гемостатических маркеров дисфункции эндотелия в зависимости от вида проведенного лечения – консервативного, хирургического (шунтирующие операции на артериях нижних конечностей с использованием синтетических материалов – ПЭТ или ПТФЭ), либо эндоваскулярного (чрескожная баллонная ангиопластика и/или стентирование артерий с использованием нитиноловых эндопротезов). Работа выполнена с использованием современных методов, клинических и лабораторно-инструментальных методик, адекватных поставленным задачам. Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным количеством лиц, участвующих в клинической части исследования (167 пациентов с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей). В процессе обсуждения результатов исследования при сравнительном анализе данных, полученных в данной работе и других российских и зарубежных исследованиях, автор выдвигает ряд обоснованных и оригинальных положений, важных как в научном, так и в практическом отношении.

В ходе клинической части работы были выявлены корреляционные связи между активностью и уровнем гемостатических маркеров дисфункции эндотелия до и после эндоваскулярных и открытых оперативных вмешательств, либо на фоне консервативного лечения, и развитием различных исходов и осложнений заболевания.

Применение современных методов статистической обработки данных, включая методы логистической регрессии и ROC-анализа, позволило автору выявить основные тенденции и определить влияние исследуемых показателей на течение атеросклеротического процесса и развитие осложнений и

неблагоприятных исходов, таких как прогрессирующее заболевание, рестеноз, потеря конечности, инфаркт миокарда, развитие новообразований и летальных исходов, а также предложить алгоритмы их прогнозирования, что призвано улучшить результаты лечения и прогноз у больных с заболеваниями периферических артерий атеросклеротической этиологии.

В заключении диссертационной работы представлены ключевые полученные результаты и дана их критическая оценка. Выводы логично следуют из поставленных задач и основаны на полученных результатах исследования, которые, в свою очередь, позволили автору представить важные практические рекомендации.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертационного исследования нет. Незначительные орфографические и стилистические ошибки не оказывают негативного влияния на научно-практическую значимость работы и полученных результатов.

При изучении материалов диссертационного исследования к автору работы появилось ряд вопросов:

1. Почему для эксперимента использована модель *in vitro* на культуре клеток, а не, к примеру, традиционные модели на животных, принятые в экспериментальной хирургии?

2. На какие факторы риска развития осложнений следует обращать внимание практическому врачу в первую очередь в диагностике и лечении пациентов с атеросклеротическим поражением артерий нижних конечностей по результатам работы?

Заключение

Диссертационная работа Мжаванадзе Нины Джансуговны «Гемостатическое звено эндотелиальной дисфункции при развитии осложнений у пациентов с периферическим атеросклерозом» на соискание ученой степени доктора медицинских наук, выполненная при научном консультировании профессора Калинина Романа Евгеньевича, является законченной научно-

квалификационной работой, в которой изложено новое научно обоснованное решение актуальной проблемы – улучшения результатов лечения пациентов с заболеваниями периферических артерий путем создания моделей прогнозирования неблагоприятных исходов на основании оценки показателей гемостатического звена дисфункции эндотелия, что вносит значительный вклад в развитие сердечно-сосудистой хирургии.

По своей актуальности, методам и объему выполненных исследований, научному содержанию, новизне, достоверности и практической значимости результатов диссертация соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), а ее автор, Мжаванадзе Нина Джансуговна, достойна присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия (медицинские науки).

Официальный оппонент:

ведущий научный сотрудник отделения сосудистой хирургии ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России, доктор медицинских наук (14.01.26 – Сердечно-сосудистая хирургия)

Сапелкин Сергей Викторович

Подпись д.м.н. Сапелкина С.В. удостоверяю:
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России,
доктор медицинских наук


Степанова Юлия Александровна

« 21 » февраля 2022 г.

Адрес: 117997, г. Москва, Большая Серпуховская ул., 27
Электронный адрес: sapelkin@ixv.ru
Телефон: +7 (499) 236-90-80