

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заведующего кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Мустафина Ильшата Ганиевича на диссертационную работу Минаева Антона Валерьевича «Значение биохимических особенностей венозной стенки для прогноза и лечения варикозной болезни нижних конечностей», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы исследования

Варикозная болезнь нижних конечностей является одной из самых распространенных патологий периферических сосудов. Причины возникновения венозной недостаточности до сих пор не до конца выяснены. Многими авторами выявлен каскад биохимических реакций на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях. В последнее время уделяется значительное внимание изучению у пациентов с варикозом в плазме крови ряда биохимических показателей, которые отражают изменения в метаболических и иммунных процессах. Вместе с тем содержание ключевых показателей, отражающих интенсивность метаболических процессов, и активность факторов гуморального иммунитета непосредственно в варикозно трансформированной венозной стенке практически не изучены. До сих пор нет ясности в отношении роли ферментных систем и белков иммунной защиты в этиологии этого заболевания, также мало работ по цитокиновому профилю при варикозе. В связи с этим проведение исследований по выяснению роли ряда ключевых метаболитов в патогенезе варикозной болезни (фактора некроза опухоли- α , D-димера, холестерина, интерлейкина- 1β , иммуноглобулинов А, G, М, активности аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и креатинкиназы), в основе которых лежит определение данных показателей в варикозно деформированных участках подкожных вен нижних конечностей у пациентов

разных классов заболевания, представляется крайне актуальным.

Исходя из вышеизложенного, не вызывает сомнения актуальность представленной диссертационной работы.

Оценка содержания и качества оформления научно-квалификационной работы

Структура и оформление научно-квалификационной работы традиционные. Диссертация содержит 120 страниц машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 269 источников: 118 отечественных и 151 зарубежных. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 20 рисунками, которые наглядно отражают результаты работы. Все разделы диссертации соответствуют требованиям, принятым для квалификационных работ. Результаты исследования и их обсуждение изложены четко и логично.

Введение содержит обоснование актуальности и новизны исследования, в нем сформулированы цель и задачи исследования, доказана практическая значимость его результатов, представлены основные положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы подробно представлены данные об эпидемиологии и факторах риска варикозной болезни нижних конечностей, биохимических основах патогенеза и биохимических маркерах варикозного расширения вен нижних конечностей.

Во второй главе охарактеризованы группы участников исследования, описаны методы клинических и лабораторных исследований, а также методы статистического анализа.

В третьей главе детально изложены результаты собственных исследований. Описан этиопатогенетический анализ факторов риска развития варикозной болезни нижних конечностей, приведены и описаны

результаты анализа образцов крови и исследования биохимических показателей в биоптатах вен у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей.

Далее проводится непосредственное обсуждение результатов исследования, резюмируются современные литературные и полученные автором данные.

В заключении содержится обсуждение результатов исследования. В этой главе сформированы и оформлены основные положения для выводов и практических рекомендаций.

Выводы и практические рекомендации диссертационного исследования достоверны, логично обоснованы, обладают научным и практическим значением.

Вышеизложенное позволяет заключить, что работа выполнена на высоком методическом уровне.

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

Диссертационное исследование проведено с использованием современных лабораторных и статистических методов исследований, и на достаточном количестве наблюдений (в исследовании принимал участие 141 пациент с варикозной болезнью нижних конечностей).

Методы исследования современны, информативны и адекватны поставленным целям.

По результатам комплексного исследования пациентам с варикозной болезнью нижних конечностей устанавливали диагноз и разделяли по классификации CEAP (C2-C6) (клиника-этиология-анатомия-патофизиология) на 4 группы. Всем пациентам, включенным в исследование, была выполнена плановая комбинированная флебэктомия. Перед оперативным вмешательством у пациентов осуществляли забор венозной

крови из локтевой вены, собирали мочу. Во время проведения комбинированной операции флебэктомия с согласия пациента были выделены образцы ткани с варикозно трансформированных участков большой подкожной вены в средней трети бедра. Извлеченные фрагменты вен отмывали 0,9% раствором хлорида натрия, затем размещали на фильтровальной бумаге для удаления излишек влаги и упаковывали в пластиковую пробирку с крышкой типа эппендорф. Образцы замораживали в холодильной камере при температуре -30°C . Перед началом исследования образцы медленно размораживали при комнатной температуре $+25^{\circ}\text{C}$. Навеску взвешивали на электронных весах «Ohaus» и из расчета на 1 г ткани добавляли 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Для получения растворимых белков ткань растирали в фарфоровой ступке с кварцевым песком на холоде до гомогенного состояния, а затем центрифугировали (Sigma 2-16KL с охлаждением) в течение 15 минут, относительное ускорение центрифуги 4751 g. Отделяли полученную надосадочную жидкость и переливали в чистые пробирки. В супернатанте ткани вен нижних конечностей спектрофотометрическим методом определяли активность креатинкиназы, лактатдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и количество холестерина, методом иммуноферментного анализа определяли количество интерлейкина- 1β , фактора некроза опухоли- α , иммуноглобулинов А, G, М и D-димера. В плазме крови спектрофотометрическим методом определяли активность лактатдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, количество холестерина, триацилглицерола, общего билирубина, глюкозы, липопротеинов низкой плотности, липопротеинов высокой плотности, общего белка, прямого билирубина, натрия, калия, хлора, железа, креатинина, методом иммуноферментного анализа определяли количество D-димера, турбидиметрическим методом определяли количество С-реактивного белка. Также определяли следующие показатели

клинического анализа крови: СОЭ, эритроциты, гемоглобин, гематокрит, средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация Hb в эритроцитах, относительная ширина распределения эритроцитов по объему (стандартное отклонение), относительная ширина распределения эритроцитов по объему (коэффициент вариации), тромбоциты, средний объем тромбоцитов, тромбоциты, относительная ширина распределения тромбоцитов по объему, лейкоциты, нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты, лимфоциты.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

Новизна результатов исследования

1. Установлены биохимические основы заболевания вен нижних конечностей по уровню фактора некроза опухоли- α , D-димера, холестерина, интерлейкина- 1β , иммуноглобулинов А, G, активности аминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и креатинкиназы, что позволяет проанализировать современные подходы к лечению данной патологии с учётом выявленных метаболических сдвигов.

2. Увеличение уровня D-димера в плазме крови и биоптатах вен является предиктором развития заболевания вен нижних конечностей.

3. Получены доказательства, что колебания уровня хлора в плазме крови от верхних до нижних пределов нормы могут являться точным критерием диагностики острой и хронической стадии развития заболевания вен нижних конечностей.

4. Поздняя стадия развития заболевания вен нижних конечностей характеризуется признаками кислородной недостаточности в плазме крови на фоне снижения количества эритроцитов и, как следствие, уровня гемоглобина, а в клетках вен нижних конечностей усилением реакций

гликолиза и глюконеогенеза наряду со снижением энергетического потенциала.

Практическая значимость результатов исследования

Была разработана новая концепция учета повреждения стенки венозного клапана у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей, и установлена взаимосвязь полученных результатов с классом заболевания. Демонстрация лейкоцитарно-эндотелиального клеточного взаимодействия, опосредованная каскадом биохимических реакций, является важным шагом в выяснении этиологии хронического заболевания вен.

Выявленные биохимические изменения в варикозно деформированных венах у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей по мере прогрессирования заболевания обосновывают необходимость дальнейшего изучения на молекулярном уровне патогенеза данной патологии. Динамические изменения активности ферментов и количества ряда метаболитов в варикозно расширенных венах могут послужить предпосылкой для разработки новых лекарственных препаратов, оказывающих влияние на энергетический и фибринолитический потенциал клеток и уровень воспаления в венозной стенке. Изучение биохимических основ развития варикозной болезни нижних конечностей может привести к поиску новых молекулярных маркеров прогрессирования заболевания и предикторов возникновения данной патологии и их дальнейшему возможному применению с целью диагностики в клинической практике.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы внедрены в педагогический процесс при проведении практических занятий по биологической химии и хирургическим болезням студентам лечебного факультета, чтении лекций, а также в научных исследованиях на кафедрах биологической химии, хирургических болезней и клинической ангиологии федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, а также в практическую деятельность 16 отделения сосудистой хирургии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница им. В.В. Вересаева Департамента здравоохранения города Москвы».

Полнота опубликования основных результатов исследования и соответствие автореферата основным положениям диссертации

Результаты диссертационного исследования достаточно полно отражены в 14 печатных работах, из которых 5 (1 в БД Scopus) - в журналах, рекомендованных ВАК для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, и изданиях, приравненных к ним.

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на Девятой Российской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке», Казань, 2017; 72-ой Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения почётного профессора ЯГМУ, заслуженного врача РФ Ярыгина Н.Е., Ярославль, 2018; XXXX Итоговой научной конференции общества молодых учёных МГМСУ им. А.И. Евдокимова, Москва, 2018; Двенадцатой Российской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке», Казань, 2020.

Замечания

Существенных замечаний по диссертации Минаева А.В. нет. В диссертации встречаются стилистически не вполне удачные фразы, обороты.

Однако указанные недочеты не носят принципиального характера и не уменьшают научной и практической значимости проведенного исследования.

В ходе ознакомления с рукописью диссертации и авторефератом возникли вопросы:

1. Какая связь между показателями местного иммунитета и биохимическими?

2. Можно ли сравнивать количество D-димера, определяемого в нг/мг ткани, с его содержанием в периферической крови?

3. Какова причина повышения содержания иммуноглобулинов непосредственно в ткани варикозных вен?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Минаева Антона Валерьевича «Значение биохимических особенностей венозной стенки для прогноза и лечения варикозной болезни нижних конечностей» соответствует паспорту специальности 1.5.4. Биохимия и является завершенным научно-квалификационным исследованием, выполненным лично автором. Содержит новое решение актуальной научно-практической задачи по поиску дополнительных лабораторных маркеров и оценке степени местного иммунитета для мониторинга течения варикозной болезни нижних конечностей и оценке эффективности проводимой терапии, что имеет существенное значение для медицинской науки, в частности, для биохимии, патологической физиологии и сосудистой хирургии.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов диссертационная работа Минаева А.В. соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 (в действующей редакции), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а

ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук,
профессор

И.Г. Мустафин

Подпись официального оппонента, д.м.н., профессора Мустафина И.Г. заверяю:

Проректор ФГБОУ ВО
Казанский ГМУ Минздрава России,
д.м.н., профессор



Д.И. Абдулганиева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
420012, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, д.49
Тел. 8(843)236-06-52; 8(843)236-06-93
E-mail: rector@kgmu.kcn.ru
E-mail: ilshat64@mail.ru

«_12_» января 2023 г.

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте диссертации Минаева Антона Валерьевича на тему: «Значение биохимических особенностей венозной стенки для прогноза и лечения варикозной болезни нижних конечностей» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия, представленной для защиты в диссертационный совет 21.2.014.02, действующий на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (350063 г. Краснодар, улица Митрофана Седина, дом 4, (861)2625018)

№	Фамилия, Имя, Отчество (полностью)	Год рождения, гражданство	Место основной работы (название организации, ведомство, город, занимаемая должность)	Учёная степень (шифр специальности, по которой присуждена ученая степень в соответствии с действующей Номенклатурой специальностей научных работников, № свидетельства)	Учёное звание	Шифр специальности (отрасли науки) в диссертационном совете (с указанием отраслей; соответствующего периода; отраслей и сфер деятельности)
1	2	3	4	5	6	7
1	Мустафин Ильшат Ганиевич	1964, РФ	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики	Доктор медицинских наук, 3.3.3 – патологическая физиология	профессор	1.5.4. Биохимия
а) Перечень научных публикаций в изданиях, индексируемых в			1. The off-label use of drugs for parenteral nutrition as a solvent of substances slightly soluble in water in pharmacological research/ Urakov A.L., Mustafin I.G., Samorodov A.V., Kamilov F.Kh., Khaliullin F.A. //Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research. 2018. -			

международных цитатно-аналитических базах данных Web of Science и Scopus, а также в специализированных профессиональных базах данных Astrophysics, PubMed, Mathematics, Chemical Abstracts, Springer, Agris, GeoRef, MathSciNet, BioOne, Compendex, CiteSeerX.

- Т. 9. - N2 1. - С.9- 14. Импакт-фактор - 0,54.
- Changes in HLA-DR Expression on Monocytes and Lymphocytes in Neonatal Sepsis/ Khaertynov, K.S., Anokhin, V .A., Mustafin, I.G., Khaertynova, A.K., Sofronova, S.A. //BioNanoScience. -2018.-8(2), с. 647-653. Импакт-фактор – 0,53.
- Inhibition of fibroblast growth factor receptor-signaling sensitizes imatinib-resistant gastrointestinal stromal tumors to low doses of topoisomerase II inhibitors Boichuk, S., Dunaev, P., Galembikova, A., Mustafin, I ., Valeeva, E. //Anti-Cancer Drugs - 2018. - 29(6), с. 549-5. Импакт-фактор – 1 ,869.
- Thromboelastography as an instrument of preclinical studies of the potential drug /Urakov A.L., Mustafin I.G., Nabiullina R.M., Bashirova L.I., Mochalov K.S., Samorodov A.V., Khaliullin F.A., Lipatov D.O., Korunas V.I., Khalimov A.R. //Journal of Applied Pharmaceutical Science. - 2020. - Т. 10. № 8. - С. 105-110. DOI: DOI: 10.7324/JAPS.2020.10812. Импакт-фактор – 0,250.
- Inhibition of FGFR2-signaling attenuates a homology-mediated DNA repair in GIST and sensitizes them to DNA-topoisomerase II inhibitors. //Boichuk S.V., Dunaev P.D., Galembikova A.R., Bikinieva F., Nurgatina I.I., Mustafin I., Aukhadieva A., Kurtasanov R.S., Andriutsa N.S., Shagimardanova E.I., Gorbunova V. //International Journal of Molecular Sciences. - 2020. - Т. 21. - № 1. - С. 352. DOI: 10.3390/ijms21010352, IF: 4,556.

б) Перечень научных публикаций в журналах, входящих в Перечень РФ индексируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени

- Система гемостаза у беременных, рожениц и родильниц с преэклампсией / И.Г. Мустафин, Е.Ю. Юпатов, Т.Е. Курманбаев, Р.М. Набиуллина, Ю.Л. Тимошкова, А.А. Шмидт, Н.В. Яковлев //Акушерство, гинекология и репродукция. – 2020. – Т.14, №4. – С.469-479. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.14.4. Импакт-фактор – 0,492.
- Протеомные технологии в разработке новых вакцин на основе серотип-неспецифичных белковых антигенов STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE/ Тюрин Ю.А., Зарипова А.З., Исаева Г.Ш., Мустафин И.Г., Баязитова Л.Т. // II Казанский медицинский журнал. - 2019.-Т. 100, № 4. - С. 680-68. Импакт-фактор – 0,425.
- Нарушения системы гемостаза как основной патогенетический механизм в возникновении аномальных маточных кровотечений в постменопаузальном периоде /

<p>доктора наук, с указанием импакт-фактора журнала на основании данных библиографической базы данных научных публикаций российских учёных - Российскому индексу научного цитирования (РИНЦ). (Указать выходные данные).</p>	<p>Чечулина О.В., Курманбаев Т.Е., Тухватуллина Л.М., Хайруллина Э.А., Мустафин И.Г. // Казанский медицинский журнал. 2019. Т. 100. № 4. С. 589-594. Импакт-фактор – 0,425</p> <p>4. «Глобальные» методы исследования системы гемостаза в современной акушерской практике / Мустафин И.Г., Курманбаев Т.Е., Шмидт А.А., Тимошкова Ю.Л., Атаянц К.М. // Казанский медицинский журнал. 2019. Т. 100. № 6. С. 958-964. Импакт-фактор – 0,303</p> <p>5. Особенности экспрессии Р-селектина и агрегации тромбоцитов под действием лекарственных препаратов / Ураков А.Л., Самородов А.В., Камилов Ф.Х., Мустафин И.Г., Халиуллин Ф.А. // Фармация. 2017. Т. 66. № 3. С. 43-46. Импакт-фактор – 0,325</p> <p>6. Современные методы оценки состояния системы гемостаза в акушерстве / Курманбаев Т.Е., Яковлев Н.В., Хасанов А.А., Мустафин И.Г., Набиуллина Р.М. // Аспирантский вестник Поволжья. 2016. № 5-6. С. 68-73. Импакт-фактор – 0,159</p>
<p>в) Общее число ссылок на публикации кандидата в члены диссертационного совета в РИНЦ</p>	<p>907 Индекс Хирша - 15</p>
<p>г) Участие с приглашёнными докладами на международных конференциях. (Указать тему доклада, а также название, дату и место проведения конференции).</p>	
<p>д) Рецензируемые монографии по тематике, заявленной научной специальности. (Указать выходные данные, тираж).</p>	

е) Препринты, размещённые в международных исследовательских сетях. (Указать электронный адрес размещения материалов).	
---	--

Официальный оппонент:
заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор

Подпись официального оппонента, д.м.н., профессора Мустафина И.Г. заверяю

Проректор ФГБОУ ВО
Казанский ГМУ Минздрава России, профессор

« 12 » января 2023 г.



И.Г. Мустафин

Д.И. Абдулганиева