

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора, заведующей кафедрой биологической химии и клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации Никулиной Дины Максимовны 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 (ВБНК) является насущной проблемой среди взрослого населения всех стран. И далеко не всегда эпидемиологические данные отражают истинный уровень заболеваемости по этой нозологии. Селиверстов и соавторы (2016 г.) отмечают большой разброс данных распространенности варикозной болезни по данным исследований в 34 странах (от 73,7 до 5,0%), что, по мнению авторов, свидетельствует о несовершенстве систем оценки. ВОЗ отнесла варикозное расширение вен к болезням цивилизации, так как распространённость ВБ хорошо коррелирует с уровнем развития страны.

До настоящего времени нет полной ясности в вопросе этиологии ВБ вен нижних конечностей, несмотря на внимание к этому вопросу многих исследователей на протяжении длительного времени. Большинство работ по изучению молекулярных процессов возникновения и развития ВБНК посвящены определению различных биохимических показателей только в плазме крови данной группы пациентов. Во многих из них указано на возможность участия факторов роста, высвобождаемых макрофагами, провоспалительных цитокинов, матриксных металлопротеиназ и молекул адгезии в этиологии варикозного расширения вен. Согласно результатам исследований ряда авторов эндотелиальные клетки выделяют медиаторы

воспаления и факторов роста, таких как фактор фон Виллебранда, остеопротегерин, факторы, индуцирующие пролиферацию гладких мышц, – простагландин F_{2α}, фактор роста фибробластов-β, молекулы межклеточной адгезии-1, молекулы адгезии сосудистых клеток-1, молекулы адгезии тромбоцитов в эндотелиальных клетках-1.

Вместе с тем ключевые показатели, отражающие интенсивность метаболические процессы 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, мало работ по цитокиновому профилю при варикозе.

Все вышеизложенное указывает на то, что диссертационная работа Минаева А.В. по определению особенностей биохимических процессов в венозной стенке и их значению для прогноза и лечения варикозной болезни нижних конечностей вне сомнения актуальна.

Степень достоверности и новизна результатов исследования

Достоверность результатов, полученных автором выполненной диссертации, определена логичным дизайном исследования с формированием групп обследуемых по верифицированному диагнозу в соответствии с классификацией СЕАР (клиника-этиология-анатомия-патофизиология), комплексом адекватных клинических и лабораторных методов исследования, использованием корректного пакета статистических программ.

Новизна диссертационной работы Минаева А.В., прежде всего, определяется объектом исследования, а именно, изучением биохимических показателей молекулярного патогенеза варикозной трансформации тканей вен нижних конечностей в процессе прогрессирования заболевания. По повышению количества интерлейкина-1β и фактора некроза опухоли-α (TNF-α) автором установлено нарастание воспалительной реакции, а у пациентов с

трофическими язвами (стадия С5-С6), наоборот, отмечено снижение уровня TNF- α . Также в биоптатах венозной стенки по мере прогрессирования ВБНК отмечено повышение активности ЛДГ, щелочной фосфатазы на фоне снижения активности креатинкиназы, что свидетельствует о нарастании тканевой гипоксии, сопровождающейся снижением энергообеспечения тканей и усилении деструкции клеточных структур. Нарушение целостности венозной стенки у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей подтверждено высокой активностью трансаминаз (в большей степени аланинаминотрансферазы) и снижением уровня холестерина. Также автором показано, что увеличение уровня D-димера в плазме крови и биоптатах вен по мере прогрессирования заболевания является предиктором развития тромбозомболических осложнений, а колебания уровня хлора в плазме крови в пределах референтного диапазона могут являться дополнительным диагностическим критерием развития заболевания вен нижних конечностей. 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.

Обоснованность научных положений, результатов, выводов и рекомендаций

Основные положения работы объективны и обоснованы знанием объекта изучения, опирающимся на литературные данные, грамотным анализом материалов диссертации. Новизна полностью отражена в научных положениях, выносимых автором на защиту, и выводах.

Лабораторные исследования проведены на материале, полученном с соблюдением всех юридических и этических норм от 141 пациента - 63 (44,7%) мужчин и 78 (55,3%) женщин, находившихся на лечении в отделении

сосудистой хирургии ГБУЗ «Городская клиническая больница им. В.В. Вересаева Департамента здравоохранения города Москвы». Для решения поставленных задач автором использованы современные общеклинические и биохимические методы исследования, результаты которых можно считать достоверными и надежными. Статистический анализ полученных данных выполнен согласно общепринятым стандартам медико-биологических исследований.

Научные положения и выводы аргументированы статистическими характеристиками, полученными путем определения t-критерия Стьюдента, непараметрического U-критерия Манна-Уитни для оценки различий средних значений в группах, и корректной интерпретацией результатов в сравнении с литературными данными.

Обоснованные выводы соответствуют поставленным задачам и полностью вытекают из полученных результатов.

Практические рекомендации основаны на достоверных данных диссертационного исследования и определяют конкретные пути их реализации. Положения диссертационной работы, выносимые на защиту, полностью отражают результаты и выводы.

Научная и практическая значимость результатов исследования, а также рекомендации по их использованию

Результаты работы расширяют представление о биохимических звеньях патогенеза варикозной болезни нижних конечностей. Автором была разработана новая концепция учета повреждения стенки венозного клапана у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей и установлена взаимосвязь полученных результатов с классом заболевания. Презентация лейкоцитарно-эндотелиального клеточного взаимодействия, опосредованного каскадом биохимических реакций, является важным шагом в выяснении этиологии хронического заболевания вен. Подтверждено, что курение и

профессиональная деятельность, как факторы риска, могут быть связаны с появлением и развитием хронической венозной недостаточности.

Оригинальные данные диссертационной работы могут быть использованы как в фундаментальных областях знаний (биологическая химия, патологическая физиология), так и в практической медицине (клиническая лабораторная диагностика, сосудистая хирургия). Предложенные рекомендации имеют перспективу использования для мониторинга, диагностики и оценки эффективности лечения варикозной болезни нижних конечностей.

Степень завершенности исследования и качество оформления диссертации

Диссертация Минаева А.В. представляет собой законченный труд с общепринятой структурой и порядком изложения материала: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, глава результатов собственных исследований, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы.

Введение содержит все необходимые для ознакомления с работой характеристики: актуальность выбранной темы, обоснование поставленной цели и задач для ее достижения, научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, положения, выносимые на защиту, информацию об апробации диссертации и другие характеристики выполненного исследования.

Хорошо написанный обзор литературы дает представление об основной тематике исследования - варикозной болезни нижних конечностей, а также подробно характеризует биохимические основы патогенеза и биохимические маркеры ВБНК. Анализ объемной информации большого количества источников представлен очень логично и подводит к обоснованию поставленной цели.

Во второй главе автором приводится характеристика контингента обследованных пациентов и принципы формирования отдельных групп в зависимости от тяжести хронической венозной недостаточности, а также информация об использовании комплекса лабораторных методов исследования и алгоритме методик, необходимых для получения ответа на поставленные вопросы и формирования соответствующих теоретических выводов. Указан пакет статистических программ для обработки полученных результатов.

Результаты собственных исследований представлены в третьей главе с последующим их обсуждением. В 8 частях этой главы приводятся данные по изучению в крови и биоптатах венозной стенки биохимических показателей, характеризующих энергетический потенциал клеток ткани, процессы воспаления и деструкции венозной стенки, маркеры иммунологических реакций, а также показателей фибринолитического потенциала. Автор констатировал, что по мере прогрессирования варикозной болезни нижних конечностей в биоптатах венозной стенки нарастает тканевая гипоксия, нарушается энергообеспечение тканей и усиливается распад клеточных структур на основании количественных изменений молекулярных показателей: повышение активности лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы и уменьшением активности креатинкиназы; высокая активность трансаминаз и снижением уровня холестерина в биоптатах вен; увеличение количества D-димера в плазме крови и биоптатах венозной стенки; повышение уровня интерлейкина- 1β и TNF- α , повышение уровня иммуноглобулинов А и G; корреляционная связь между лабораторными показателями и клиническими характеристиками.

В лаконичной форме изложена суть каждого этапа исследования и оценка его результатов. Дано теоретическое обоснование практических рекомендаций расширения возможностей использования известных молекулярных маркеров, что, кстати, облегчает путь внедрения диагностического способа в практику.

Диссертационная работа А.В. Минаева имеет законченный характер и изложена в академическом стиле на 120 страницах машинописного текста. Список литературы включает 269 источников: 118 отечественных и 151 зарубежных. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 20 рисунками. Качество оформления диссертации соответствует установленным требованиям. 7 выводов и практические рекомендации вытекают из сути проведенного исследования и соответствуют его результатам.

Хорошо структурированный автореферат отражает основное содержание диссертационной работы, а последовательно изложенные основные положения диссертации позволяют объективно оценить работу.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационной работы внедрены в педагогический процесс при проведении практических занятий по биологической химии и хирургическим болезням со студентами лечебного факультета, чтении лекций, в научные исследования на кафедрах биологической химии, хирургических болезней и клинической ангиологии ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, а также в практическую деятельность 16 отделения сосудистой хирургии ГБУЗ «ГКБ им. В.В. Вересаева ДЗМ».

Полнота опубликования основных результатов исследования

По теме диссертационного исследования опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 статей в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки РФ для опубликования основных научных результатов диссертации. Материалы работы также представлены на научно-практических конференциях.

Замечания по оформлению диссертации

Принципиальных замечаний по оформлению и содержанию диссертации нет. Отдельные стилистические неточности, опечатки не носят принципиального характера и не отражаются на общей оценке ее

содержания. Однако в автореферате полученные данные представлены только в виде таблиц, хотя присутствие графического материала позволяет визуализировать данные математического анализа и, соответственно, выводы.

В ходе ознакомления с материалом диссертационной работы возникли следующие вопросы:

1. Для диагностики стадии развития ВБНК рекомендовано определять в биоптатах вен активность креатинкиназы, лактатдегидрогеназы и аланинаминотрансферазы. Насколько реально выполнение этой практической рекомендации, особенно на стадии, не требующей оперативного вмешательства?

2. Насколько объективны были результаты обследования по исключению у обследуемых патологических процессов, сопровождающихся продукцией неспецифических показателей воспаления, иммунологических реакций, в том числе в эндотелии кровеносных сосудов (например, постковидный синдром)?

3. Предложенный вами комплекс биохимических показателей деструкции тканей эффективнее определения оксипролина как маркера этого патологического процесса?

Заключение

Диссертация Минаева Антона Валерьевича «Значение биохимических особенностей венозной стенки для прогноза и лечения варикозной болезни нижних конечностей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи по разработке новой концепции определения молекулярных механизмов повреждения венозной стенки у пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей, что имеет существенное значение для медицины, в частности, для биохимии и сосудистой хирургии.

По актуальности темы, методическому уровню, новизне, теоретической 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 диссертационным работам на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Минаев Антон Валерьевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия.

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

Д.М. Никулина

Подпись официального оппонента, д.м.н., профессора Никулиной Д.М. заверяю:

Учёный секретарь ФГБОУ ВО Астраханский
государственный медицинский университет
Минздрава России, к.м.н., доцент

В.Н. Кульков

«20» января 2023 г.

ФГБОУ ВО Астраханский государственный
медицинский университет Минздрава России
414000, г. Астрахань, ул. Бакинская, д.121
Тел. +7 (8512) 52-41-43; +7 (8512) 39-41-30
E-mail: post@astgmu.ru
E-mail: nikulinadina@yandex.ru



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 рецензента	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	Никулина Дина Максимовна	1945, РФ	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой биологической химии и клинической лабораторной диагностики	Доктор медицинских наук, 1.5.4. Биохимия	Профессор по кафедре биологическо й химии с курсом клинической лабораторной диагностики	1.5.4. биохимия, медицинские науки

<p>а) Перечень научных публикаций в изданиях, индексируемых в 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.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Complex formation with protamine prolongs the thrombin-inhibiting effect of DNA aptamer in vivo / V.A. Spiridonova, T.M. Novikova, D.M. Nikulina, et ai. // Biochimie. 2018, Feb; 145: 158-162. (<i>Scopus, IFactor: 3.188, SJR 1.404, Q1</i>) 2. ДНК аптамеры в медицине: первые результаты и перспективы / Никулина Д.М., Сепиашвили Р.И., Спиридонова В.А. // Научные труды VI Съезда физиологов СНГ, VI Съезда биохимиков России - Acta naturae – спецвыпуск, том 1, 2019. С .53-54. (<i>Scopus, IF - 2,06, SJR 0.74, Q2</i>) 3. Значение прокальцитонина в кардиохирургической практике / О.В. Петрова, Д.Г. Тарасов, Д.М. Никулина, [и др.] // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. – 2018. – Т. 6, № 1 (19). – С. 51-61. (<i>Scopus, ИФ 0,164</i>) 4. Исследование роли печени в метаболизме аптамера RE 31 ингибитора тромбина / Шишкина Т.А., Никулина Д.М., Спиридонова В.А., Давлатова И.С. // Морфология. 2018. Т. 153. № 3. С. 323-323а. (<i>Scopus, IF - 0,616</i>) 5. D-димер и фибрин-мономер как маркеры эффективности использования новых оральных антикоагулянтов / О. В. Петрова, Д. Г. Тарасов, Д. М. Никулина [и др.] // Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского. – 2018. – Т. 6. – № 3(21). – С. 64-69. – DOI 10.24411/2308-1198-2018-13006. (<i>Scopus, Импакт-фактор - 0,435</i>). 6. Сравнительный анализ влияния систем для взятия крови на результаты исследования показателей системы гемостаза / О. В. Петрова, О. В. Дымова, Д. К. Твердохлебова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2020. – Т. 65. – № 10. – С. 607-610. – DOI 10.18821/0869-2084-2020-65-10-607-610. (<i>Scopus Импакт-фактор - 0,512</i>).
<p>б) Перечень научных публикаций в журналах, входящих в Перечень РФ индексируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Особенности поведения аптамера Re31 в организме экспериментальных животных в условиях гипоксии различного генеза Никулина, Т.А. Шишкина, О.В. Петрова [и др.] // Сборник материалов IV международной научно-практической конференции прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины». – Астрахань, 2019. – С. 275–277. 2. Значение определения чувствительности тромбоцитов в клинической практике / О. В. Петрова, О. И. Мурыгина, Д. М. Никулина [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2021. – Т. 16. – № 3. – С. 34-40. – DOI 10.17021/2021.16.3.34.40. Импакт-фактор - 0,556.

<p>учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени 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>3. Фармакогенетическое тестирование антиагрегантных препаратов в кардиохирургической практике: клинический случай / О. В. Петрова, Е. Р. Жукова, Д. М. Никулина [и др.] // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2021. – № 2. – С. 8-10. – DOI 10.37489/2588-0527-2021-2-8-10. Импакт-фактор - 0,129.</p> <p>4. Патент № 2712629 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/50, А61В 5/00, А61В 5/145. Способ прогнозирования сердечно-сосудистых осложнений у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с постинфарктной аневризмой левого желудочка: № 2019127139: заявл. 27.08.2019: опубл. 30.01.2020 / О. В. Петрова, Г. Р. Шабанова, Д. М. Никулина [и др.]; заявитель и патентообладатель. – ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» МЗ РФ – № 2019127139; заявл. 27.08.2019; опубл. 30.01.2020; Бюл. №4. - 10с.</p> <p>5. Патент № 2712634 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/48. Способ прогнозирования сердечно-сосудистых осложнений у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с ишемической митральной недостаточностью: № 201912713: заявл. 27.08.2019: опубл. 30.01.2020 / О. В. Петрова, Г. Р. Шабанова, Д. М. Никулина [и др.]; заявитель и патентообладатель. - ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» МЗ РФ. – № 2019127138; заявл. 27.08.2019; опубл. 30.01.2020; Бюл. №4 – 10 с.</p>
<p>в) Общее число ссылок на публикации в РИНЦ</p>	<p>516 Индекс ХИРША - 10</p>
<p>г) Участие с приглашёнными докладами на международных конференциях. (Указать тему доклада, а также название, дату и место проведения конференции). (только за 2022 год)</p>	<p>1. «Современные методы в изучении межмолекулярных взаимодействий и структуры сывороточных белков». Никулина Д.М. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН У.А. Строева, 26-27 января 2022, г. Рязань</p> <p>2. «Подготовка профессиональных кадров по специальности «Клиническая лабораторная диагностика», Никулина Д.М. Каспийский международный медицинский форум, 21-23 сентября 2022, Астрахань (докладчик, сопредседатель заседания)</p> <p>3. «Белки крови с выраженной иммуносупрессивной функцией», Д.М. Никулина. III ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ФОРУМ: VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ, VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ, X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ», 3-7</p>

	<p>октября. 2022 года. СИМПОЗИУМ «БИОХИМИЯ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕДИЦИНА» (докладчик, модератор заседания)</p> <p>4. «Белки беременности: функция и диагностический диапазон», Никулина Д. М., VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «НА СТРАЖЕ ЖЕНСКОГО ЗДОРОВЬЯ» 14-15 октября 2022 г., Астрахань.</p>
д) Рецензируемые монографии по тематике, отвечающей заявленной научной специальности.	Alpha-Fetoprotein. Functions and Clinical Applications (Editors: Nisha Lakhi, Michael Moretti). NOVA Science publishers, Inc., New York, 2016, 404 p. / Vladimir Jurisic and Dina Nikulina. Chapter 1. The History of Alpha-Fetoprotein Discovery, P. 4-19.
е) Препринты, размещённые в международных исследовательских сетях. (Указать электронный адрес).	Biochimie. doi: 10.1016/j.biochi.2017.09.010. Epub 2017 Sep 19. http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/febs.12919/pdf

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



Д.М. Никулина

Подпись официального оппонента д.м.н., профессора Никулиной Д.М. заверяю:

Учёный секретарь ФГБОУ ВО «Астраханский государственный медицинский университет» Минздрава России, к.м.н., доцент



В.Н. Кульков

Подпись заверяю:
Учёный секретарь ФГБОУ ВО
«Астраханский государственный
медицинский университет»
Минздрава России

« 20 » января 2023 г.