

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Шахмартовой Светланы Геннадьевны на тему: «Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе гемокоагуляционных осложнений у больных коксартрозом после эндопротезирования тазобедренного сустава» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность избранной темы обусловлена необходимостью поиска новых плазменных биомаркеров предтромботического состояния, поскольку проблема венозного тромбоза в ортопедии и травматологии сохраняется, несмотря на включение антикоагулянтной терапии в стратегию ведения пациента в качестве рутинной пери- и постоперационной тактики.

Большинство скрининговых лабораторных тестов оценки состояния системы гемостаза (АЧТВ, ПВ, ТВ) направлены на выявление, прежде всего, гипокоагуляции, поскольку проводятся в условиях максимальной искусственной активации свертывания крови *in vitro* и поэтому малочувствительны к гиперкоагуляционным сдвигам. Наиболее чувствительным параметром в лабораторной диагностике тромбозов обычно называют уровень Д-димера в крови, который, впрочем, позволяет исключать диагноз, но не специфически подтверждать его.

С этой точки зрения изучение механизмов, вовлеченных в развитие тромбофилического состояния, является фундаментальной предпосылкой для обнаружения индикаторов такого состояния. Эндотелиальная дисфункция, компонентом которой является смена антикоагулянтного фенотипа эндотелия на прокоагулянтный, долгое время была наименее исследованным механизмом классической триады Вирхова в контексте венозного тромбоза. За последнее время показано, что структурные или функциональные пертурбации эндотелия нарушают баланс в сторону гиперкоагуляционного

микроокружения за счет снижения синтеза антикоагулянтов, повышения экспрессии тканевого фактора и адгезивных белков.

Изучение роли эндотелиальной дисфункции в механизмах нарушения функционирования системы гемостаза у больных коксартрозом до и после эндопротезирования тазобедренного сустава может способствовать лучшему пониманию механизмов тромбофилии и разработке корректного диагностического подхода для обоснования индивидуальной антикоагулянтной тактики.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. В диссертации дается детальный анализ публикаций по вопросам функционирования системы гемостаза и эндотелия сосудов в норме, при коксартрозе и оперативном вмешательстве, обосновывается целесообразность и актуальность исследований в направлении, выбранным автором.

Представленные данные по общей характеристике обследованных лиц, а также по использованным методам и лабораторному оборудованию, свидетельствуют о репрезентативности сформированных групп, широком спектре методов, включающих коагулологические, гематологические, иммуноферментные, тромбоэластографический, и использование современной технической базы. Обоснованность полученных результатов базируется на современных и адекватных статистических методах, которые обеспечили корректную и качественную обработку полученного материала, выводы и рекомендации.

Проведено комплексное изучение состояния системы гемостаза, функции эндотелия сосудов, параметров воспалительного процесса у больных коксартрозом, поступивших для проведения им оперативного вмешательства. Использован широкий спектр методов исследования, целью которых являлось выявление динамики развития эндотелиальной дисфункции и гемокоагуляционных процессов после эндопротезирования тазобедренного сустава у больных коксартрозом. Такой подход позволил

выявить маркеры, которые могут служить предикторами гемостазиологических осложнений.

Достоверность и новизну исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Материал исследования хорошо документирован, полученные результаты не вызывают сомнений в объективности и достоверности, которые обеспечиваются использованием современных средств и методик проведения исследований. Теоретические положения основываются на известных достижениях фундаментальных и прикладных научных дисциплин: физиологии, патофизиологии, гематологии, травматологии и ортопедии, математической статистике. В работе диссертант грамотно использует математический аппарат.

Научная новизна исследования. Полученные автором оригинальные результаты раскрывают механизмы взаимодействия защитных систем организма: воспаления и гемостаза, в динамике оперативного вмешательства на тазобедренном суставе при коксартрозе. В качестве нового научного результата диссертантом выдвинуто положение о том, что у больных коксартрозом не только исходный уровень функционирования гемостаза, но и исходная дисфункция эндотелия может определять выраженность гемокоагуляционных изменений в ответ на хирургическое повреждение. В полном соответствии с концепцией классической патофизиологии о реактивности, автором выявлена неоднородность реакции среди обследованных пациентов.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в обосновании значения исходного уровня дисфункции эндотелия в адаптационной реакции при эндопротезировании тазобедренного сустава у больных коксартрозом. Выявленные референтные ассоциации маркеров: sICAM-1, неоптерина и Д-димера у больных коксартрозом до и после

эндопротезирования тазобедренного сустава могут быть взяты за основу и использованы при дальнейших научно-исследовательских изысканиях.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Материалы диссертации могут быть использованы в научно-исследовательской работе в области патологической физиологии, гематологии, клинической медицины, травматологии и ортопедии. Результаты исследования рекомендуется для использования в учебных учреждениях медицинского профиля.

Результаты исследований внедрены в практику клиничко-диагностической лаборатории ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России, в учебную программу кафедры клинической лабораторной диагностики ФУВ ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России.

Публикации. По теме диссертации опубликована 21 печатная работа, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; получен патент РФ на изобретение №2438128 «Способ прогнозирования тромбофилических осложнений при эндопротезировании тазобедренного сустава».

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России. Номер государственной регистрации 01200904587.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах получения, статистической обработке и анализа материала, а также в апробации результатов исследования, подготовке основных публикаций по выполненной работе и оформлению патента.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности. Диссертация построена по традиционному плану, состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, глав, отражающих результаты собственных исследований и их обсуждение, заключения,

выводов, практических рекомендаций, библиографического списка, включающего 181 источник.

Во введение Шахмартова С.Г. четко сформулировала актуальность работы, определила цель и задачи исследования, обосновала научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, представила положения, выносимые на защиту, формы апробации работы, ее внедрения.

В обзоре литературы (глава 1) автор достаточно полно отразила вопросы этиологии и патогенез коксартроза, функции сосудистого эндотелия и дисфункцию эндотелия при коксартрозе и у больных после эндопротезирования тазобедренного сустава.

В заключение обзора автор отмечает, что имеются данные о наличии у больных коксартрозом признаков эндотелиальной дисфункции, гиперкоагуляционного синдрома, течение которых усугубляется после операции эндопротезирования тазобедренного сустава. Однако в литературе нет данных об изменении адгезионной, гемостатической функций эндотелия у больных коксартрозом. Комплексное изучение воспалительного ответа и системы коагуляции у больных коксартрозом может раскрыть патогенетические механизмы развития и стать основой для разработки специальных подходов к профилактике и лечению тромбогеморрагических осложнений.

Структура и методология диссертационного исследования изложены во второй главе «Материалы и методы исследования», в которой автор дает характеристику обследуемым лицам, критериям включения и исключения их в проводимое исследование. Подробно описаны методы исследования системы гемостаза, маркеров функцию эндотелия и воспаления, включающие определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового времени по Квику (ПВ по Квику), тромбинового времени (ТВ), содержания фибриногена, активности XII_a -зависимого фибринолиза (XII_a -Фз), уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) и D-димеров с помощью наборов фирм «Ренам»

(Россия), «РОШ-диагностика» (Австрия) и коагулометра «Thrombotimer-4» (Германия), а также оценку показателей тромбоэластограмм (ТЭГ), зарегистрированных с использованием тромбоэластографа «TEG 5000» (США): максимальной амплитуды (МА), времени с момента начала образования сгустка до достижения им фиксированной прочности (К), скорости роста фибриновой сети (угол α), лизиса сгустка в течение 30 минут (LY30), коагуляционного индекса (CI). Методы исследования функции эндотелия заключались в определении методом ИФА концентрации молекул межклеточной адгезии-1 (sICAM-1) и адгезивных молекул сосудистых клеток-1 (sVCAM-1), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF-A) и Е-селектина в сыворотке крови с помощью наборов «Bender MedSystems GmbH» (Австрия) и ридера «Anthos 2020» (Австрия). Исследование активности воспаления у пациентов проводили по уровню С-реактивного белка (СРБ) («CRP FS» DiaSys, Германия), содержанию количества лейкоцитов в периферической крови (гематологический анализатор Sysmex 1800i, Япония) и скорости оседания эритроцитов (СОЭ) (метод Панченкова), уровню неоптерина в сыворотке крови, определяемого методом ИФА (набор «Neopterin» фирмы «IBL», Германия; ридер «Anthos 2020», Австрия). Статистическая обработка материала проведена с использованием пакета программ Statistica 10.0. После определения нормальности распределения по критерию Шапиро-Уилка проводили статистическую обработку численного материала методами описательной статистики в группах больных коксартрозом до операции и на 5-7 сутки после ЭПС. Для описания нормально распределённых количественных признаков использовали среднюю арифметическую величину (M) и стандартное отклонение (s) с вычислением t-критерия Стьюдента для 2 независимых и 2 зависимых выборок. Кроме того, в работе применяли параметрический однофакторный дисперсионный анализ, тест Тьюки, корреляционный анализ (метод Пирсона), а также непараметрический критерий χ^2 с поправкой Йетса. Результаты считали достоверными при $p < 0,05$.

Использованные автором методы исследования современны и информативны. Достоверность полученных данных подтверждается методами статистической обработки (параметрическая, непараметрическая, корреляционная статистика) полученных результатов исследования.

В главах 3, 4, 5 – представлены результаты собственных исследований. В третьей главе приведены результаты обследования пациентов группы сравнения, которые соответствуют референтным величинам изучаемых показателей. Представляет интерес выявленные корреляционные связи, которые свидетельствуют о тесных взаимоотношениях между процессами гемостаза и воспаления.

В четвертой главе описаны результаты обследования больных коксартрозом, которые доказывают наличие двух отличных друг от друга групп. Большинство показателей тромбоэластограммы крови и коагулограммы плазмы крови у больных коксартрозом находились в пределах нормальных значений. Исключение составлял тест на содержание РФМК, который указывал на активацию внутрисосудистого свёртывания крови. Повышенное образование фибрин-мономерных комплексов свидетельствует о наличии у больных тромбинемии, внутрисосудистого свёртывания крови. И, действительно, при определении содержания D-димера оказалось, что у 46% больных КА его уровень превышает 0,5 нм/мл, что свидетельствует об активации фибринолиза, который вторичен по отношению к усилению процесса гемокоагуляции, и является одним из маркёров тромбинемии и избыточного образования нерастворимого фибрина. Таким образом, можно сделать вывод, что по уровню sICAM-1 больных коксартрозом можно разделить на две группы. У части пациентов обеих групп есть признаки повышенного тромбообразования, подтверждённые такими лабораторными показателями, как – повышенное количество растворимых фибрин-мономерных комплексов и D-димеров в крови. Между группами больных имеется также различие по уровню маркёра воспаления – неоптерина.

Проведённый корреляционный анализ также показал имеющееся различие выделенных групп больных коксартрозом. Корреляционные связи (всего 11) в 1-й группе преимущественно составляют показатели, отражающие разные звенья процесса коагуляции крови. Во 2-й группе помимо 7 корреляций, включающих показатели гемостаза, обнаружено 8 корреляционных связей между гемостазиологическими показателями, маркерами эндотелиальной дисфункции и воспалительными маркерами. Это подтверждает различное состояние гомеостаза в двух группах пациентов. Количественный анализ корреляционных связей указывает на более жесткое функционирование систем крови у пациентов 2-й группы.

Пятая глава посвящена описанию результатов, полученных после эндопротезирования тазобедренного сустава. В ней показана зависимость послеоперационных изменений гемостаза от исходного состояния эндотелия.

Коагуляционный потенциал крови растёт как в 1-й, так и во 2-й группе больных коксартрозом, что подтверждается изменениями в тромбоэластограмме, однако критические значения D-димеров ($\geq 3,0$ нм/мл) у больных 1-й группы встречаются только в 27,8% случаев, а у пациентов 2-й группы – в 87,5% случаев ($\chi^2 = 5,5; p = 0,018$). Это позволяет предположить, что у больных коксартрозом 2-й группы риск развития тромботических и тромбоэмболических осложнений выше, чем у пациентов 1-й группы.

Реакция воспаления после эндопротезирования тазобедренного сустава у больных коксартрозом обеих групп проявляется статистически значимым увеличением СОЭ, повышенным содержанием фибриногена и СРБ в крови. Однако статистически значимое повышение уровня неоптерина наблюдается только у пациентов 1-й группы, что указывает на адекватность защитно-приспособительной реакции их организма на хирургическую агрессию за счёт участия данного маркера воспаления в регуляции клеточного иммунитета и способности оказывать антиоксидантное действие.

В Заключение (глава 6) автор провела анализ проделанной работы, завершая ее «Выводами» и «Практическими рекомендациями», которые

полностью соответствуют поставленным задачам и отвечают положениям, выносимым на защиту.

Диссертация представляет собой законченную работу, которая базируется на достаточных исходных данных, она написана грамотно, корректно оформлена. По каждой главе и работе в целом сделаны четкие выводы. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

При рецензировании диссертационной работы появился ряд вопросов, в частности:

1. Вы указываете, что «у больных коксартрозом можно предположить снижение адаптационных возможностей организма, менее выраженное у больных 1-й группы (условно «компенсированное» состояние иммунитета) и в значительно большей степени у больных 2-й группы (условно «субкомпенсированное» состояние иммунитета)». Разве признаки воспаления, активации системы гемостаза свидетельствует о снижении адаптации, а не о ее мобилизации?
2. Чем, кроме уровня циркулирующих молекул адгезии различались пациенты 1 и 2 групп (клиническая характеристика)?
3. Обоснуйте, пожалуйста, применение терминов «адгезионная и гемостатическая формы эндотелиальной дисфункции». Молекулы адгезии являются признанным компонентом системы гемостаза.

Заключение. Таким образом, диссертация Шахмартовой Светланы Геннадьевны на тему: «Роль эндотелиальной дисфункции в патогенезе гемокоагуляционных осложнений у больных коксартрозом после эндопротезирования тазобедренного сустава» на соискание ученой степени кандидата наук является научно-квалификационной работой, имеющей важное значение для специальности 14.03.03. – патологическая физиология, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная научная задача в областях патофизиологии и травматологии и ортопедии. По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, а также по достоверности и обоснованности

полученных результатов диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, а автор заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук.

Профессор кафедры общей патологии
ГБОУ ВПО «Казанский государственный
медицинский университет» Минздрава России
доктор медицинских наук

26.03.2015

420012, Казань, ул.Бутлерова, д. 49
e-mail: zubairovalaily@gmail.com
тел.: (905)317-69-86

Зубаирова Л.Д.



Подпись <u>Л.Д. Зубаирова</u>	И.Д.
завещаю.	
Ученый секретарь Ученого	
Совета ГБОУ ВПО Казанский ГМУ	
доцент <u>О.Р. Радченко</u>	Радченко О.Р.
« 26 » <u>марта</u>	20 <u>15</u> г.