

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Малинина Юрия Юрьевича на тему: «Факторы риска, патогенез осложнений, механизмы регуляции гемостаза и пиелонефрита после контактной литотрипсии», представленной на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03– патологическая физиология.

Диссертационная работа Малинина Юрия Юрьевича посвящена лечению мочекаменной болезни (МКБ), исследованию факторов рисков хирургии МКБ, прогнозированию осложнений, определению механизмов регуляции геморрагии и воспалительных реакций после эндоурологических оперативных вмешательств, а также молекулярным механизмам регуляции элиминации конкремента по мочеточнику. МКБ - одна из важнейших проблем современной урологии вследствие значительной распространенности, возможности развития обструктивных осложнений, в частности острого пиелонефрита, гематурии, трудностей предупреждения осложнений на ранних этапах их развития, недостаточной эффективности консервативного лечения. Тотальное внедрение в практику лечения МКБ эндоскопических технологий только оттенило существование обструктивных и интервенционных осложнений.

Так, концепция патогенеза гематурии после контактной литотрипсии отсутствует до настоящего времени. При этом у больных с МКБ отмечается дисрегуляция тромбоцитов. Агрегация тромбоцитов (АТц) в значительной степени связана с их количеством и морфологией, чувствительностью рецепторного аппарата плазмолеммы к различным агонистам, состоянием внутриклеточных сигнальных путей, в связи с чем исследование реактивности Тц оправдано с точки зрения прогноза развития гематурии и путей ее коррекции, развития пиелонефрита на этапах консервативного и оперативного лечения, а также механизмов его ограничения.

Научная новизна и практическая значимость исследований.

В диссертации Малинина Ю.Ю. «Факторы риска, патогенез осложнений, механизмы регуляции гемостаза и пиелонефрита после контактной ли-

тотрипсии» представлены результаты, обладающие научной новизной, имеющие практическую значимость:

- выявлены факторы риска осложнений при неэффективной ЛКТ при камнях мочеочника,
- изучен патогенез гематурии и возникновения пиелонефрита у больных с МКБ,
- установлены молекулярные механизмы регуляции агрегации тромбоцитов и воспалительной реакции после КЛТ в верхнем и среднем отделах мочеочника при неэффективной ЛКТ.

Впервые проведен комплексный анализ механизмов патогенеза геморагий, гематурии и пиелонефрита путем сопоставления клинических данных и характеристик функционального состояния Тц и лейкоцитов. Впервые доказано, что после КЛТ клетки крови являются репрезентативной моделью для оценки выраженности гематурии и лейкоцитурии, а также исследования механизмов регуляции гемостаза и развития пиелонефрита.

Создана модель прогноза выраженности гематурии на этапе госпитализации у пациентов с неэффективной ЛКТ, которая позволяет оценить риск послеоперационной гематурии. Впервые установлено, что снижение выраженности гематурии после КЛТ и сохранении введения НПВП связано с компенсаторными реакциями Тц, которые регулируются P2X₁-рецептором, АТ₁-рецептором, α_2 -адренорецептором и ФАТ-рецептором а при отмене НПВП гемостаз обеспечивается адаптационными реакциями Тц, которые регулируются GPVI-рецептором, α_2 -адренорецептором и АТ₁-рецептором, PУ-рецепторами.

Впервые описана трансформация кластера рецепторов на клетках крови, регулирующих формирование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА) и лейкоцитурию, которая зависит от активности циклооксигеназы (ЦОГ) и отдела мочеочника, на котором выполняется КЛТ. Показано, что после КЛТ в верхней трети мочеочника и сохранении введения НПВП образование ТЛА и лейкоцитурия связаны с активностью α_2 -адренорецептора, ФАТ-рецептора и P2X₁-рецептора; после отмены НПВП стереотипными механизмами развития пиелонефрита являются стимуляция GPVI-рецептора и

ФАТ-рецептора. В работе впервые описана функциональная активность рецепторного аппарата клеток крови у пациентов после КЛТ, выполненной в средней трети мочеточника при неэффективной ЛКТ. Продемонстрирована роль ФАТ-рецептора, P2Y-рецепторов и α_2 -адренорецептора в восстановлении гемостаза и реализации воспалительной реакции при назначении НПВП после КЛТ. Доказано, что усиление компенсаторной реакции Тц достигается благодаря синергизму P2Y-рецепторов и АТ₁-рецептора. Впервые установлены молекулярные механизмы регуляции адаптационной реакции клеток крови при восстановлении активности ЦОГ, которые определяют эффективность агрегации и исход пиелонефрита после КЛТ.

Выполненное исследование привело к созданию концепции патогенеза гематурии и пиелонефрита после малоинвазивных оперативных вмешательств на разных отделах мочеточника; позволило верифицировать механизмы регуляции компенсаторных и адаптационных реакций клеток крови при ингибировании и восстановлении активности ЦОГ, а также обеспечило понимание роли внутриклеточной сигнализации системы рецепторов, связанных с G-белками в механизмах эффективности гемостаза и развития пиелонефрита после КЛТ. На основании проведенного исследования активности рецепторов и сопряженных сигнальных путей клеток крови предложена система критериев для диагностики и прогнозирования эффективности гемостаза и исхода пиелонефрита при нефролитиазе и после КЛТ; оценки влияния неэффективной ЛКТ на функциональную активность Тц и лейкоцитов; диагностики геморрагий, выраженности гематурии и пиелонефрита при нефролитиазе и после КЛТ; прогнозирования риска развития и прогрессирования осложнений после оперативных вмешательств в верхней и средней трети мочеточника; определения эффективности компенсаторных и адаптационных механизмов гемостаза и ограничения развития пиелонефрита; идентификации мишеней фармакологической коррекции с целью оптимизации гемостатической и противовоспалительной терапии после малоинвазивных оперативных вмешательств на МВП.

Обоснованность и достоверность полученных результатов.

Работа основана на достаточном объёме клинического материала (192 пациента с камнями мочеточника при условии неэффективной ЛКТ). Обработка информации проведена корректно, с достаточно строгим использованием математических методов обработки полученных данных с помощью статистических пакетов MedStat и MedCalc 18.10.2.

Диссертационная работа является фрагментом научно-исследовательской работы: «Моделирование ответа биологических систем (клеток, органов, организма) на действие факторов повреждения» (№ госрегистрации 0113U002251). Используемые методы диагностики соответствуют современным стандартам качества обследования больных и представлены в полном объёме. Изложенные выводы сформулированы грамотно и по существу вопроса, соответствуют цели и задачам исследования. Рекомендации представляют интерес как с теоретической точки зрения, как инструмент понимания процессов, вызывающих местную реакцию тканей при МКБ, так и с практической, как направления до-, интра- и послеоперационной коррекции осложнений, а также могут быть использованы в учебном процессе кафедр урологии и патологической физиологии.

Краткая характеристика основного содержания диссертации.

Диссертационная работа Ю.Ю. Малинина построена по классическому принципу, использовано достаточное количество литературных источников. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на съездах, конгрессах и конференциях, в достаточном количестве представлены в научных публикациях (38 научных работ, 28 – в рецензируемых периодических изданиях). Получено 3 патента на полезные модели.

Диссертантом самостоятельно обосновано научное направление, определены цели и задач исследования, разработаны методические подходы и избраны методы исследования. Автором самостоятельно проведен сбор материала, выполнены малоинвазивные оперативные вмешательства на мочевыводящих путях, обобщены данные клинико-инструментального обследования пациентов с нефролитиазом, проведен анализ и теоретическое обобщение результатов, сформулированы выводы. Диссертантом не были заимствованы

результаты и идеи соавторов публикаций. Материалы, положения и выводы кандидатской диссертации соискателя в данной работе не использовались. Материалы диссертационной работы внедрены в клиническую практику урологических отделений ДНР. Полученные теоретические и практические данные используются в учебном процессе кафедры урологии ГОО ВПО «ДОН-НМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО».

Диссертация состоит из перечня условных обозначений, введения, восьми глав, анализа и обобщения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций и списка литературы.

Во введении обоснована актуальность диссертационного исследования; сформулирована цель и основные задачи работы; описан предлагаемый автором подход к решению поставленных задач; характеризуется степень новизны полученных результатов и их апробация.

В первой главе рассмотрены патогенез осложнений и методология их диагностики, механизмы регуляции гемостаза и пиелонефрита после контактной литотрипсии, влияние литокинетической терапии на гемостаз и развитие острого пиелонефрита, исследованы патогенез осложнений и механизмы регуляции функциональной активности клеток крови при реализации воспаления, ремоделирования внеклеточного матрикса слизистой оболочки мочеочника – как причины гематурии.

Во второй главе изложены материал и методы исследования, обоснован дизайн исследования и клиническая характеристика пациентов, описаны методы исследования агрегационной способности Тц и методики математической обработки материала.

Исследование носило проспективный характер и включало 192 пациента с конкрементами верхней или средней трети мочеочника, которые находились на стационарном лечении в отделении РУВДДК и эндоурологии ДОКТМО с 2020 по 2022 год. Пациенты были рандомизированы в две сравнимые группы. Первая включала 118 пациентов с локализацией конкрементов в верхней трети мочеочника. У всех пациентов стандартная литокинетическая терапия (ЛКТ) оказалась неэффективна, при этом в первой группе перемещения камня из пиелоуретерального сегмента не произошло, во второй –

конкремент сместился в среднюю треть мочеточника. Всем пациентам выполнена стандартная неосложненная антеградная нефроуретеролитотрипсия. После операции в течении 2 суток сохранялась стандартная противовоспалительная терапия, включающая НПВП и антибиотики.

В третьей главе рассмотрены вопросы патогенеза гематурии после КЛТ в верхней трети мочеточника при неэффективной ЛКТ. Отмечено, что в характере агрегационной способности Тц выявлены закономерности их функциональной активности в разные сроки после оперативного лечения, в частности α_2 -адренорецептора, пуриновых P2X₁- и P2Y-рецепторов, аденозинового A2-рецептора, ангиотензинового AT₁-рецептора, TxA2-рецептора, ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора к коллагену IV типа, что позволяет выявить факторы повышения функциональной активности лейкоцитов, развития воспалительной реакции в МВП и связать их с деградацией коллагена IV типа базальной мембраны сосудов и уротелия.

В четвертой главе рассмотрены механизмы компенсации и адаптации тромбоцитарного звена гемостаза после КЛТ, в следствие чего выявлена связь факторов риска нефролитиаза и патогенетических факторов гематурии, зависимости уровня геморрагии и приема НПВП. Анализ сенситивности рецепторов Тц позволяет прогнозировать и минимизировать риски развития макрогематурии, уточнить критерии применения НПВП (целесообразность, сроки и дозировка).

Полученные в исследовании результаты свидетельствуют об усилении адаптационных механизмов Тц, в основе которой лежит сопряженность путей сигнализации GPVI-, AT₁-, P2Y-, ФАТ- и TxA2-рецепторов.

В пятой главе исследован патогенез воспаления после КЛТ в верхней трети мочеточника при неэффективной ЛКТ путем измерения динамических изменений маркёров пиелонефрита (количества циркулирующих ТЛА и выраженности лейкоцитурии) на этапе госпитализации и через 24ч, 48ч, 72ч и 7 суток после оперативного лечения. Снижение количества ТЛА и выраженности лейкоцитурии свидетельствует об участии этих рецепторов в торможении воспалительной реакции. Установление фактов взаимодействия рецепторов на клетках крови позволяет приблизиться к установлению молекулярных ме-

ханизмов патогенеза пиелонефрита в различные сроки после КЛТ и защитных реакций ограничивающих воспаление в МВП.

Значительный интерес представляет выявленная отрицательная корреляционная связь между активностью ФАТ-рецептора и А2А-рецептора, β_2 -рецептора через 7 суток после КЛТ в плане поиска механизмов ограничения воспаления. Данная связь отражает ингибирующее влияние внутриклеточных сигнальных путей на синтез ФАТ в лейкоцитах. Исследование молекулярных механизмов разных этапов воспалительной реакции в МВП после КЛТ позволит усовершенствовать профилактику и лечение пациентов с острым пиелонефритом.

В главе 6 изучен патогенез гематурии после антеградной КЛТ в средней трети мочеточника при неэффективной ЛКТ путем сопоставления активности рецепторов Тц и выраженность гематурии через 24ч, 48ч после операции при сохранении введения НПВП, и через 72ч, 7 суток после отмены НПВП.

При этом установлено, что при длительной неэффективной ЛКТ имеет место дисрегуляция моторики мочеточника, связанная с функционированием защитных механизмов, направленных на выведение конкрементов путем повышения активности рецепторов, способных модулировать сокращение гладкомышечных клеток (ГМК). По сути, механизм, оправданный при элиминации мелких конкрементов, становится нецелесообразным применительно к выведению конкрементов средних размеров, поскольку поддерживается гипертонус мышечной оболочки. В этих условиях, низкая активность аденозинергической сигнализации, обеспечивающей релаксацию ГМК, является фактором, препятствующим трафику конкрементов, размер которых превышает диаметр просвета мочеточника. При этом внутриклеточная сигнализация, обусловленная гиперреактивностью пуриновых $P2X_1$ - и $P2Y$ рецепторов, α_2 -адренорецептора, AT_1 -рецептора, TxA_2 -рецептора, $GPVI$ -рецептора и ФАТ-рецептора, и гипореактивностью А2А-рецептора не обеспечивает элиминацию конкремента средних размеров из мочеточника, однако модулирует проагрегантную активность Тц, следствием чего является ограничение выраженности гематурии.

Таким образом, при неэффективной ЛКТ через 7 суток после КЛТ и

отмены НПВП выявлено ограничение микрогематурии до легкой степени выраженности связанное с адаптационной реакцией Тц, в регуляции которой принимали участие P2Y-рецепторы, GPVI-рецептор, ФАТ-рецептор и ТхА2-рецептор. Максимальная агрегация Тц воспроизводилась при взаимодействии GPVI-рецептора и P2Y-рецепторов; при этом синергия может достигаться путем ко-активации фосфолипазы С β и/или ФИ-3К. Стереотипным механизмом регуляции адаптационной реакции Тц при восстановлении активности ЦОГ является сигнализация P2Y-рецепторов и ТхА2-рецептора. Вариативным механизмом, повышающими проагрегантную активность Тц, через 24ч после отмены НПВП являлась сигнализация α_2 -адренорецептора, а через 7 суток – сигнализация ФАТ-рецептора и GPVI-рецептора. Расшифровка механизмов регуляции компенсаторных и адаптационных реакций Тц позволит разработать новые методы лечения и профилактики геморрагии связанные с КЛТ.

В 7 главе отражен патогенез пиелонефрита после КЛТ в средней трети мочеточника при неэффективной ЛКТ на основании анализа функциональной активности рецепторов Тц, компенсаторных и адаптационных реакций организма, контролирующих развитие воспаления при назначении и отмене НПВП на протяжении заданных временных интервалов.

В 8 главе in vitro смоделированы механизмы регуляции компенсаторных и адаптационных реакций клеток крови после КЛТ в средней трети мочеточника. Данные исследования подтвердили, что реализация воспалительной реакции в мочевыводящих путях при сохранении введения НПВП сопровождается компенсаторным повышением формирования ТЛА и рекрутирования лейкоцитов, которое через 24ч после КЛТ в средней трети мочеточника воспроизводится при синергизме α_2 -адренорецептора и ФАТ-рецептора; через 48ч – P2Y-рецепторов и ФАТ-рецептора, а также ФАТ-рецептора и АТ $_1$ -рецептора. При отмене НПВП через 72ч после КЛТ наиболее выраженный эффект образования ТЛА воспроизводится in vitro при взаимодействии P2X $_1$ -рецептора и ФАТ-рецептора, а также ФАТ-рецептора и α_2 -адренорецептора. Через 7 суток количество ТЛА возрастает при взаимодействии P2X $_1$ -рецептора и GPVI-рецептора на 23,4 % ($P < 0,01$) и 51,9 %

($P < 0,001$) по сравнению с изолированной стимуляцией, соответственно, GPVI-рецептора и $P2X_1$ -рецептора.

Анализ и обобщение результатов исследования достаточно раскрывают суть проблемы возникновения и механизмов регуляции гематурии у пациентов с МКБ. В ходе исследования впервые выявлены как общие, так и специфические механизмы регуляции воспаления после КЛТ в разных отделах мочеточника. При этом участие пуринового рецептора к АТФ ($P2X_1$ -R) и рецептора тромбоксана A_2 (TxA_2) в регуляции трафика лейкоцитов в слизистой МВП возникало независимо от отдела мочеточника в котором проводилась КЛТ, что объяснимо, учитывая возможность сохранения воспалительной реакции до восстановления барьерной функции уротелия. При этом отмечено, что синтез TxA_2 и повышение секреции АТФ являются звеньями одной цепи патологических процессов, сохраняющихся в тканях МВП и через 7 суток после оперативного вмешательства: нарушение микроциркуляции – ишемия – воспаление – гематурия. В этом контексте стереотипные механизмы регуляции функциональной активности клеток крови и лейкоцитурия отражают наличие одних и тех факторов патогенеза пиелонефрита. Активация GPVI- и ФАТ-рецепторов возникает при тканевом запросе на миграцию лейкоцитов на фоне усиления функциональной деградация внеклеточного матрикса МВП.

Нужно подчеркнуть, что фундаментальные знания в области цитологии и патофизиологии не могут быть адекватно заменены простым расчетом корреляционных связей между показателями на большом массиве данных. Поэтому до этапа статистической обработки материала автором общепатологические процессов, лежащих в основе изучаемых осложнений хирургического лечения МКБ смоделированы *in vitro*.

Одним из подходов стало исследование внутриклеточной сигнализации на изолированных клетках крови, имеющих известные рецепторы - «сенсоры», воспринимающие разнообразные эндо- экзогенные возмущающие воздействия. Автором *in vitro* исследованы функциональная активность рецепторов на клетках крови, обеспечивающих «ввод информации» о патогенетических факторах нарушающих гомеостаз, пути активация клеток крови и

формирование ТЛА.

Изучение молекулярных механизмов нарушений тромбогенеза и механизмов регулирования пиелонефрита после малоинвазивных оперативных вмешательств на мочеточнике, позволяют определить мишени фармакологической коррекции, что позволит усовершенствовать тактику литокинетической терапии. Апробация и внедрение результатов работы в урологических и нефрологических отделениях позволит повысить эффективность диагностики и прогнозирования осложнений связанных с мочекаменной болезнью и проведением литотрипсии.

Выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации обоснованы и достоверны.

Автореферат оформлен в соответствии со стандартными требованиями, материал исследования изложен доступно, содержит все основные данные, расчеты и пояснения. В диссертации проведено теоретическое обобщение и достигнуто решение актуальной научной проблемы – установления механизмов развития геморрагии, гематурии, острого пиелонефрита после литотрипсии, а также восстановления гемостаза и ограничения воспалительной реакции в мочевыводящих путях при назначении НПВП; повышения эффективности диагностики и прогнозирования гематурии и лейкоцитурии после КЛТ; совершенствования методов профилактики и лечения послеоперационных осложнений при назначении и отмене НПВП у пациентов с нефролитиазом.

Замечания по работе:

Работа написана литературным русским языком, количество ошибок минимально. Работа имеет важное клиническое (прикладное) значение.

Однако, можно сформулировать некоторые замечания по работе:

1. Прочтение текста затрудняют многочисленные аббревиатуры и слишком длинные предложения.
2. Выводы и практические рекомендации содержат неоднозначно понимаемые формулировки и в них много рассуждений вместо того, чтобы быть конкретными и лаконичными. За счет лаконичности текста в выводах возможно его сокращение с уменьшением страниц до двух-трех.

В качестве дискуссионных вопросов хотелось бы обсудить следующие:

1. Как связан выбор групп сравнения с локализацией конкремента в верхней и средней трети мочеточника?
2. Каковы причины выбора контактной антеградной нефроуретеролитотрипсии, как метода хирургического лечения МКБ в данном исследовании?
3. Возможно ли предположить, что механизмы регуляции гематурии и пиелонефрита при локализации конкремента в средней и нижней трети мочеточника будут схожи?

В целом указанные замечания не снижают значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования Ю.Ю.Малинина.

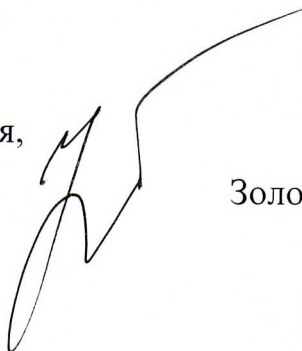
Диссертация Малинина Юрия Юрьевича «Факторы риска, патогенез осложнений, механизмы регуляции гемостаза и пиелонефрита после контактной литотрипсии», выполненная на кафедре гистологии, цитологии и эмбриологии ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького» является законченным научным трудом, который содержит решение важной научной проблемы – установления механизмов развития гематурии, лейкоцитурии после контактной литотрипсии в разных отделах мочеточника, что позволяет повысить эффективность профилактики, диагностики и лечения послеоперационных осложнений у пациентов с нефролитиазом. Диссертационное исследование существенно для развития патологической физиологии гемостаза и воспаления, а также регуляции функции мочевыводящих путей при мочекаменной болезни.

Учитывая актуальность, обоснованность полученных результатов, теоретическое и практическое значение, научную новизну диссертационная работа Юрия Юрьевича Малинина «Факторы риска, патогенез осложнений, механизмы регуляции гемостаза и пиелонефрита после контактной литотрипсии», полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, от 02.08.2016 г. №748, от 29.05.2017 г. №650, от

28.08.2017 г. №1024, от 01.10.2018 г. №1168, от 11.09.2021 г. № 1539), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Согласен на обработку персональных данных.

Доктор медицинских наук,
специальность 14.03.03 –
патологическая физиология,
профессор



Золотухин Сергей Евгеньевич

Республиканский травматологический центр
Министерства здравоохранения
Донецкой Народной Республики,
Донецкая Народная Республика
283048, г. Донецк, ул. Артёма, 106.
Тел.: +38 (062) 311-06-07,
Тел./факс: +38(062)311-05-08,
rtcdon@mail.ru,
<http://trauma-ort.ru>

*Формирование Золотухин С.Е.
соответствует
назначения*



Н. А. Воронцов