

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 исследованию путей адаптации мочевыводящих путей у больных с МКБ мочекаменной болезни (МКБ) в случаях дефекта элиминации конкрементов верхней и средней трети мочеточника, факторов риска хирургии МКБ, прогнозированию осложнений и возможным путям их предупреждения.

Появление эндоскопических технологий не избавило пациентов от таких послеоперационных осложнений как геморрагия и развитие острого пиелонефрита. До настоящего времени отсутствует концепция патогенеза гематурии после литотрипсии, хотя не вызывает сомнений дисрегуляция тромбоцитов (Тц). Установлено, что агрегация тромбоцитов (АТц) в значительной степени связана с их количеством и морфологией, чувствительностью рецепторного аппарата плазмолеммы к различным агонистам, состоянием внутриклеточных сигнальных путей.

В литературе представлена ограниченная и противоречивая информация об участии Тц в генезе нестабильной гематурии. Исследование реактивности Тц позволяет выделить группу пациентов с высоким риском развития макрогематурии после оперативного лечения нефролитиаза и определить дифференцированный подход к применению гемостатической терапии.

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. Пиелонефрит послеоперационного периода может быть связан как с техническими особенностями выполнения литотрипсии, так и наличием инфекции МВП. Совершенствование тактики управления воспалительным процессом в стенке мочеточника требует новых теоретических знаний, касающихся механизмов регуляции трансэндотелиальной миграции лейкоцитов, а также трафика клеток крови в слизистой оболочке при наличии инфекции. Одним из методических подходов, позволяющих решить эту задачу, может быть анализ рецепторного аппарата клеток крови *in vitro*, например Тц и лейкоцитов, регулирующих миграцию клеток при развитии воспалительной реакции, что позволит воссоздать картину патогенеза острого пиелонефрита на этапах консервативного и оперативного лечения пациентов с нефролитиазом.

Научная новизна и практическая значимость исследований.

В диссертации Малинина Ю.Ю. «Факторы риска, патогенез осложнений, механизмы регуляции гемостаза и пиелонефрита после контактной литотрипсии» представлены результаты, обладающие научной новизной, имеющие практическую значимость:

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

Впервые: - проведен комплексный анализ механизмов патогенеза 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.

- изучена трансформация кластера рецепторов на клетках крови, регулирующих формирование тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов (ТЛА) и лейкоцитурию, зависящая от активности циклооксигеназы (ЦОГ) и отдела мочеточника, в котором локализован конкремент. Доказано, что после КЛТ в верхней трети мочеточника 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.

- описана функциональная активность рецепторного аппарата клеток крови у пациентов после КЛТ, выполненной в средней трети мочеточника. 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.

В ходе выполнения исследования созданы:

- 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 AT_1 -рецептором, PУ-рецепторами.

- концепция 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 после КЛТ камней мочеточника при условии неэффективной ЛКТ). Обработка информации проведена корректно, с использованием математических методов обработки полученных данных с помощью статистических пакетов MedStat и MedCalc 18.10.2.

Диссертационная работа - фрагмент 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 объеме. Выводы сформулированы грамотно, по существу вопроса, соответствуют цели и задачам исследования. Рекомендации представляют интерес как с теоретической точки зрения, как инструмент понимания процессов, вызывающих острую 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 классически, 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 достоверно обосновано научное направление, определены цели и задачи исследования, разработаны методические подходы и избраны методы исследования. Автором 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 «ДОННМУ 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; описаны предлагаемые пути решения поставленных задач; охарактеризована 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, клиническая характеристика пациентов, описаны методы исследования агрегационной способности Тц и методики математической обработки материала.

Исследование носило проспективный характер и включило 192 пациента с конкрементами верхней или средней трети мочеочника в условиях неэффективной ЛКТ, находившихся на стационарном лечении в отделении РУВДДК и эндоурологии ДОКТМО с 2020 по 2022 год. Пациенты были рандомизированы в две сравнимые группы. В первой группе (118 пациентов) перемещения камня из пиелоуретерального сегмента не произошло, во второй (74 пациента) – конкремент сместился только в среднюю треть мочеочника. Всем пациентам выполнена стандартизованная 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. Выявлены закономерности функциональной активности Тц и лейкоцитов в разные сроки после оперативного лечения, их связь с воспалительной реакцией и 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 ТхА2-рецепторов.

В пятой главе исследован патогенез воспаления после КЛТ в верхней трети мочеточника 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 механизмов патогенеза пиелонефрита в различные сроки после КЛТ и защитных реакций ограничивающих воспаление в МВП. 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.

Таким образом, 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. 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. При отмене НПВП через 72ч после КЛТ наиболее выраженный эффект образования ТЛА воспроизводится *in vitro* при взаимодействии P2X₁-рецептора и ФАТ-рецептора, а также ФАТ-рецептора и α₂-адренорецептора. Через 7 суток количество ТЛА возрастает при взаимодействии P2X₁-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 P2X₁-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 (P2X₁-R) и рецептора тромбоспандина А2 (ТхА2) 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 ТхА2 и повышение секреции АТФ являются звеньями одной цепи патологических процессов, сохраняющихся в тканях МВП и через 7 суток после оперативного вмешательства. 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.

Важное значение имеет исследование внутриклеточной сигнализации на изолированных клетках крови, имеющих известные рецепторы - «сенсоры», воспринимающие разнообразные эндо- экзогенные возмущающие воздействия. *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 при МКБ, позволяет уточнить мишени фармакологической коррекции, что позволит усовершенствовать тактику ЛКТ. Апробация и внедрение результатов работы в урологических и нефрологических отделениях позволит повысить эффективность диагностики и прогнозирования осложнений связанных с хирургическим лечением МКБ.

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.

Принципиальных замечаний по содержанию автореферата и диссертационного исследования нет.

К содержанию работы могут быть сделаны следующие замечания:

есть некоторые опечатки и разночтения, например обозначение гликопротеинового рецептора к коллагену IV типа базальной мембраны в некоторых местах отличается от оговоренного в перечне условных обозначения и выглядит как GP VI-рецептор или GP VI-R.

В качестве дискуссии хотелось бы обсудить следующие вопросы:

1. Каковы причины различных путей регуляция гематурии на ранней и поздней стадии повреждения?
2. Какова роль ТЛА в регулировании острого воспаления в МВП?
3. Нужна ли обязательная терапия НПВП всем пациентам с обструктивными формами мочекаменной болезни?

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.

Официальный оппонент:

Заведующий хирургическим
отделением №2 Донецкого
клинического территориального
медицинского объединения
Министерства здравоохранения
Донецкой Народной Республики,
д.мед.н., профессор



Енгенов Н.М.

Донецкое клиническое территориальное
медицинское объединение
Министерства Здравоохранения
Донецкой Народной Республики,
283099г. Донецк, пр-т. Ильича 14, ,
тел. (062) 312-71-13, 295-62-93
E-mail: doktmo.mzdnr@mail.ru

Подпись Енгенова Никоса Михайловича, доктора медицинских наук,
профессора заверяю:



ОТВЕЧАЮЩИЙ ЗА
ОТДЕЛ КАДРОВ



(Араменко Е.В.)