

Отзыв
официального оппонента

доктора медицинских наук Порембской Ольги Ярославны на диссертационную работу Агапова Андрея Борисовича на тему «Комплексная оценка системы апоптоза, гемостаза и воспаления у пациентов с венозными тромбоэмболическими осложнениями при лечении новой коронавирусной инфекции COVID-19», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия

Актуальность диссертационной работы

С начала пандемии COVID-19 стало очевидно, что тромбозы оказываются наиболее типичным осложнением данного заболевания. Вместе с тем уже первые публикации высветили проблему низкой эффективности антикоагулянтной профилактики и лечения венозных тромбоэмболических осложнений при COVID-19. Обращала на себя внимание необычно высокая частота тромбозов на фоне применения антикоагулянтных препаратов. Звучали предположения, что причинами могут являться различные варианты коагулопатий, диссеминированного внутрисосудистого свертывания, тромботической микроангиопатии, провоцируемых вирусом SARS-CoV-2. Детальное изучение проблемы показало, что в основе тромботических осложнений лежит прямое и опосредованное повреждение вирусом эндотелиальных клеток сосудистой стенки, а также воспаление со значительным повышением в крови концентрации провоспалительных цитокинов, активирующих эндотелий и иммунные клетки-эффекторы тромбоза. Запуск цитокинового каскада, превосходящего по мощности прокоагулянтного воздействия эффекты антикоагулянтных препаратов, объяснял высокий процент развития тромбоза глубоких вен, тромбоза и тромбоэмболии легочной артерии. Несмотря на проведенные многочисленные исследования, режимы применения антикоагулянтных препаратов, необходимых для преодоления цитокиновых воздействий и профилактики тромботических осложнений у больных COVID-19, до настоящего времени остаются не ясны. Однозначной представляется необходимость индивидуального подхода к выбору

дозы препарата с учетом тяжести заболевания, выраженности воспалительного ответа на инфицирование вирусом SARS-CoV-2, наличия сопутствующих заболеваний. К настоящему времени было предложено множество различных алгоритмов выбора вариантов антикоагулянтной терапии и профилактики, однако четкие удобные в клиническом применении алгоритмы, в которых бы учитывались как клинические аспекты течения заболевания, так и лабораторные показатели воспаления и коагуляции, до сих пор сформулированы не были.

В этой связи актуальной является работа Агапова Андрея Борисовича, в которой автор подробно изучает возможности антикоагулянтных препаратов в профилактике венозных тромбоэмболических осложнений у пациентов с COVID-19 с оценкой динамики маркеров воспаления и тромботического процесса, с анализом частоты развития геморрагических событий и подтверждением действенности предложенных им алгоритмов профилактики тромбозов и построенных прогностических моделей исходов болезни.

Научная новизна исследования и полученных результатов

Научную новизну диссертационного исследования представляет проведенная автором комплексная оценка показателей воспаления, таких как СРБ, ферритин, количество лейкоцитов в крови, СОЭ, прокальцитонин, и специфических маркеров IP-10 и MCP-1 и системы апоптоза (кальретикулин, фосфатидилсерин) у пациентов с COVID-19 в условиях проведения антикоагулянтной профилактики. Впервые показана различная динамика изученных показателей в зависимости от использованных антикоагулянтных препаратов (низкомолекулярных гепаринов, нефракционированного гепарина, прямых оральных антикоагулянтов). Разработана прогностическая модель оценки риска летального исхода у пациентов с коронавирусной инфекцией (Патент № 2802422) и модель прогнозирования развития тромбоэмболии легочной артерии при проведении антикоагулянтной терапии (Патент № 2802386), а также алгоритмы выбора антикоагулянтной профилактики с учетом клинической картины, сопутствующих заболеваний и уровня маркеров воспаления.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Автором предложен алгоритм выбора антикоагулянтной профилактики венозных тромбозмболических осложнений (ВТЭО) у пациентов с COVID-19. Также продемонстрирована результатами исследования эффективность нефармакологической профилактики с использованием эластической компрессии венозных тромбозов у больных с высоким риском геморрагических осложнений. Модель оценки риска летального исхода и тромбозмболии легочной артерии у пациентов COVID-19, разработанная автором, может быть использована в работе специализированных медицинских учреждений.

Достоверность и обоснованность результатов исследования

Достоверность и обоснованность полученных в диссертационной работе результатов не вызывает сомнений. Автором проведен тщательный анализ литературы последних лет по теме исследования, как отечественной, так и зарубежной, обоснована актуальность, методология работы, использованы адекватные методы лабораторной и инструментальной диагностики. В работе применены современные методы статистической обработки данных. Диссертационная работа содержит обширный иллюстративный материал. Репрезентативный объем выборки включенных в исследование пациентов (370 человек) определяют высокую степень достоверности результатов.

По материалам диссертационного исследования авторов опубликовано 32 научные работы, из них 11 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 8 из которых – в изданиях, входящих в международную цитатно-аналитическую базу данных Scopus. Получено 2 патента РФ на изобретение.

Оценка содержания и оформления диссертации

Диссертация состоит из классических разделов и включает введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты и их обсуждение,

заключение, выводы и практические рекомендации, список литературы. Диссертационная работа изложена на 228 страницах печатного текста, иллюстрирована 36 рисунками, 45 таблицами, 8 клиническими примерами. Список литературы содержит 43 источников отечественных и 213 зарубежных авторов.

Во **Введении** изложена актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическое и практическое значение работы.

В Главе **«Обзор литературы»** подробно разобраны основные звенья патогенеза COVID-ассоциированных тромбозов и кровотечений. Приведены известные из литературы данные о показателях системы гемостаза и воспаления, меняющихся в процессе тромбообразования при новой коронавирусной инфекции. Проанализированы результаты мировых рандомизированных клинических исследований по применению различных вариантов антикоагулянтов в профилактике и лечении венозных тромбоэмболических осложнений у пациентов с COVID-19.

В главе **«Материалы и методы»** приведены лабораторно-инструментальные методы исследования, методология работы и статистические способы обработки полученных данных. Основной материал основан на результатах исследования 370 пациентов с COVID-19 двух госпиталей г. Рязань: ГБУ РО «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Рязань и ГБУ РО «Областная клиническая больница».

В **Третьей главе** представлены результаты и обсуждение полученных данных. Проведен анализ факторов риска развития ВТЭО у пациентов с COVID-19. Показано, что наличие ожирения повышает риск развития ВТЭО более чем в 4 раза ($p=0,022$), хронического заболевания вен — более чем в 6 раз ($p=0,001$);

использование искусственной вентиляции легких ассоциировано с увеличением риска развития ВТЭО более чем в 5 ($p=0,001$), применение нефракционированного гепарина (НФГ) в сравнении с низкомолекулярными гепаринами (НМГ) или прямыми оральными антикоагулянтами (ПОАК) — более чем в 3 раза ($p=0,028$).

Рассмотрено типичное для COVID-19 осложнение — локальное тромботическое поражение бассейна легочной артерии без источника возможной эмболии в венозном русле. Микротромбозы в ветвях легочных артерий характеризуются скрытым течением и высокой летальностью. Подобный вариант тромбоза наблюдали чаще у пациентов, получавших НФГ, чем НМГ и ПОАК (11,4% случаев против 1,1% случаев и 0% случаев соответственно, $p=0,028$). Показательно, что в данной группе большому числу пациентов проводили искусственную вентиляцию легких — 21% случаев, показатель, значительно превышающий таковой в других группах больных ($p < 0,001$).

Тромбоз глубоких вен (ТГВ) нижних конечностей у больных, получавших НФГ составил 6,5% случаев, в отличие от частоты данного осложнения в группах НМГ и ПОАК (1,6% и 1,8% случаев соответственно, $p=0,031$). Частота больших кровотечений при использовании НФГ превысила таковую в двух других группах, достигнув 4,9%, против 0,5% случаев у пациентов, получавших НМГ, и 0% у пациентов, принимавших ПОАК ($p=0,004$). Частота малых кровотечений у пациентов в группе НФГ оказалась равной 17,9% случаев против 7,4% случаев на НМГ и 5,3% случаев на ПОАК соответственно ($p=0,025$).

В рамках исследования автором проведен поиск лабораторных предикторов высокой вероятности летального исхода заболевания. Отмечена статистически значимая высокая концентрация фибриногена у пациентов при поступлении как фактор риска неблагоприятного развития болезни. Д-димер оказался прогностическим маркером возможного нарастания тяжести заболевания. Больные с такими коморбидными состояниями как ожирение и сердечно-сосудистые заболевания имеют больший риск летального исхода.

Обобщает полученные данные разработанная автором прогностическая

модель оценки риска летального исхода у пациентов с новой коронавирусной инфекцией, эффективность которой подтверждена клиническими примерами.

Проведена оценка факторов риска развития геморрагических осложнений и предложен алгоритм их профилактики. Сопутствующей патологией, повышающей риски кровотечений, показаны ожирение ($p=0,013$), хронические заболевания вен ($p=0,042$) и ВТЭО в анамнезе ($p=0,005$). Среди лабораторных показателей, при высоких концентрациях которых у большого числа пациентов возникали кровотечения, были высокий уровень лейкоцитов ($p=0,035$), ферритина ($p=0,001$), фибриногена ($p=0,01$) и Д-димера ($p=0,04$). Лекарственные препараты, ассоциированные с высокой частотой развития кровотечений, – НФГ ($p=0,425$), назначение НМГ снижало риск геморрагических осложнений ($p=0,001$). В отделении реанимации и интенсивной терапии применение неинвазивной вентиляции легких также было ассоциировано с вероятностью развития кровотечений ($p=0,001$).

Автором изучены возможности применения компрессионной терапии в профилактике тромботических осложнений у больных COVID-19. По результатам исследования частота ТГВ у пациентов без эластической компрессии составила 5,8%, а у пациентов с применением трикотажа ТГВ не были диагностированы ни в одном случае ($p=0,052$). Компрессионный трикотаж оказался эффективным средством профилактики ТГВ в случаях невозможности назначения пациентам антикоагулянтных препаратов.

В **Четвертой главе** представлены результаты анализа динамики специфических лабораторных маркеров коагуляции, воспаления и апоптоза при применении разных антикоагулянтов, что отсылает к противовоспалительным свойствам этих препаратов.

Автором показано, что в группе пациентов, которым назначали НМГ происходило значимое уменьшение концентрации специфических провоспалительных маркеров: IP-10 на 10,5% ($p<0,001$) и MCP-1 на 63,9% ($p<0,001$), а также снижение концентрации фибриногена ($p<0,001$) и Д-димера

($p=0,016$). Динамика тех же маркеров у пациентов, получавших НФГ, значительно отличалась, наблюдалось только снижение уровня IP-10 на 22,2% ($p<0,001$), уровень МСР-1 оставался неизменным ($p=0,387$). Среди показателей коагулограммы уменьшался только уровень фибриногена ($p<0,001$), тогда как уровень Д-димера не менялся ($p=0,429$). У пациентов, принимавших ПОАК, также продемонстрировано снижение концентрации IP-10 на 17,2% ($p<0,001$), но значения МСР-1 и фибриногена сохранялись без изменений в начале и в конце лечения ($p=0,124$, $p=0,075$ соответственно), при этом уровень Д-димера, наоборот, повысился ($p=0,008$). Исследование маркеров апоптоза показало, что по мере проведения лечения антикоагулянтными препаратами концентрация кальретикулина (НМГ-НФГ $p<0,001$; НМГ-ПОАК $p=0,024$; НФГ-ПОАК $p=0,764$) и фосфатидилсерина (НМГ-НФГ $p=0,021$; НМГ-ПОАК $p=0,005$; НФГ-ПОАК $p=0,913$) значительно повысилась только у пациентов на фоне НМГ.

При исследовании специфических маркеров воспаления у пациентов с ожирением автором показано, что снижение содержания IP-10 и МСР-1 наиболее значительно происходило у пациентов, получавших НМГ по сравнению с НФГ. Концентрация кальретикулина ($p=0,009$) и фосфатидилсерина ($p=0,046$) у пациентов с ожирением также была существенно выше при приеме НМГ. При этом назначение НМГ позволило снизить частоту развития ВТЭО и кровотечений в отличие от случаев с назначением НФГ.

Среди лабораторных показателей факторами, ассоциированными с высоким риском развития геморрагических осложнений, оказались высокие уровни маркеров острой фазы воспаления и коагуляции: значение ферритина более 569 мкг/л и низкий уровень фибриногена менее 4,25 г/л ($p=0,01$). При применении НМГ риск кровотечений оказался значительно ниже такового при сравнении с НФГ и ПОАК ($p=0,001$).

В **заключении**, написанном в классическом стиле, автор обобщает полученные клинические и лабораторные данные, подводя итоги работы.

В ходе выполнения диссертационного исследования все поставленные

диссертантом цели и задачи были успешно решены.

Выводы обоснованы, однозначно сформулированы, соответствуют цели и поставленным задачам и отражают основные результаты выполненного исследования.

Практические рекомендации доступны и адаптированы к практическому применению для сосудистых хирургов и врачей различных специальностей, которые применяют антикоагулянтные препараты для профилактики ВТЭО. Автореферат полностью отражает содержание диссертации, включая выводы и практические рекомендации.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе А.Б. Агапова нет. В тексте имеются незначимые для восприятия работы опечатки.

Вопросы, возникшие при прочтении диссертации:

1) Какие хронические заболевания вен являлись факторами риска развития геморрагических осложнений? Какова может быть причина высокого риска кровотечений у таких пациентов?

2) Ветви легочной артерии каких порядков исследовали при аутопсии у пациентов? Разные авторы описывали формирование тромбов в ветвях легочной артерии любых порядков вплоть до субсегментарных ветвей и микроциркуляторного русла на фоне назначений как низкомолекулярных гепаринов, так и нефракционированного гепарина. Может ли быть расхождение с данными литературы связано с ограничениями протокола аутопсии или же они обусловлены четко отработанными алгоритмами применения антикоагулянтных препаратов у пациентов, вошедших в исследование?

3) Были ли в исследовании пациенты, которым в процессе лечения меняли не только дозировки антикоагулянтных препаратов, но сами препараты? В какую группу исследования попадали пациенты в подобных случаях?

4) Может ли быть обусловлена высокая частота венозных тромбоэмболических и геморрагических осложнений у пациентов при назначении нефракционированного гепарина (НФГ) тем, что при нарастании тяжести заболевания пациента переводили в отделение интенсивной терапии и любые антикоагулянтные препараты меняли на НФГ? Таким образом, могли ли осложнения быть обусловлены не недостатками антикоагулянтного препарата, а тяжестью заболевания и недостатками мониторингирования уровня антикоагуляции?

5) Почему в предложенном Вами алгоритме при повышении МСР-1 и не повышенном уровне тромбоцитов рекомендованы либо низкомолекулярные гепарины (НМГ), либо прямые оральные антикоагулянты (ПОАК), хотя последние не снижали уровня данного показателя? Почему также в алгоритме именно ПОАК указаны как препараты выбора при повышении МСР-1, высоких тромбоцитах и прогрессировании ковида?

Заключение

Диссертация Агапова Андрея Борисовича на тему «Комплексная оценка системы апоптоза, гемостаза и воспаления у пациентов с венозными тромбоэмболическими осложнениями при лечении новой коронавирусной инфекции COVID-19», представленная на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы сердечно-сосудистой хирургии, заключающейся в улучшении результатов лечения пациентов с коронавирусной инфекцией на основании оценки системы апоптоза, гемостаза и воспаления, прогнозирования риска развития тромбоэмболических и геморрагических осложнений, что имеет важное медико-социальное значение.

Диссертационная работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к

