

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, заведующего кафедрой клинической лабораторной диагностики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктора медицинских наук, доцента Котовой Юлии Александровны на диссертационную работу Липиной Марии Григорьевны «Взаимосвязь IL-13 и TGF- $\beta$ 1 с активностью катепсинов и показателями воспаления у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия

### **Актуальность работы**

Диссертационная работа Липиной Марии Григорьевны посвящена, с одной стороны, актуальной проблеме современной биохимии – изучению взаимосвязей между интерлейкином–13 и трансформирующим фактором роста бета- $\beta$ 1, катепсинами В, L, Н и высокочувствительным СРБ, с другой стороны изучению фундаментальных механизмов патогенеза варикозной болезни нижних конечностей.

На сегодняшний день исследование спектра низкомолекулярных белковых молекул представляет собой перспективное направление для поиска новых диагностических маркеров заболеваний и обладает высокой биомедицинской ценностью. В свою очередь, катепсины способны деградировать изменённые белки внеклеточного матрикса, в том числе, окислительно модифицированные, что ведет к нарушению структурной целостности сосудистой стенки и сбою ее физиологической работы. Помимо этого, катепсины играют важную регуляторную роль, участвуя в активации и созревании цитокинов и факторов роста, что дополнительно обосновывает актуальность выбранной тематики.

Высокочувствительный С-реактивный белок (вчСРБ) выступает в роли неспецифического индикатора скрытого воспалительного процесса, ассоциированного с риском сердечно-сосудистых событий; он вовлечен в системную реакцию организма на хроническое вялотекущее воспаление,

характерное для варикозной болезни нижних конечностей.

Многосторонняя оценка взаимосвязей между локальными изменениями в сосудистой стенке и системными нарушениями в сыворотке крови, развивающимися на фоне дисбаланса протеолитических ферментов и воспалительных медиаторов, обуславливает фундаментальную ценность проведенного исследования и создает основу для усовершенствования диагностических стратегий в современной флебологии.

### **Научная новизна и значимость полученных результатов**

Научная новизна диссертационной работы подтверждается тем, что впервые проведена количественная оценка интерлейкина-13 (IL-13) и вЧСРБ непосредственно в гомогенате варикозно расширенных вен, что позволяет охарактеризовать тканевое ремоделирование при хроническом заболевании вен.

Автором впервые установлено статистически значимое снижение уровня IL-13 на фоне повышения профибротического TGF- $\beta$ 1 и провоспалительного вЧСРБ в стенке варикозной вены. Выявленная статистически значимая высокая положительная корреляционная взаимосвязь между IL-13 и TGF- $\beta$ 1 в гомогенате вен расширяет существующие представления о сложных механизмах взаимодействия между воспалением и фиброзом в сосудистой стенке.

Впервые получены данные по повышению уровня вЧСРБ как локально (в ткани вены), так и системно (в сыворотке крови) при варикозной болезни нижних конечностей. Отсутствие корреляции между IL-13 и вЧСРБ позволяет по-новому взглянуть на недостаточность противовоспалительной защиты при декомпенсированных формах заболевания.

Впервые проведено исследование активности катепсинов В, L, Н относительно клинического класса хронических заболеваний вен (ХЗВ). Активность катепсинов В, L, Н повышается в большей степени в сыворотке крови, чем в гомогенате пораженных вен; показана ведущая роль катепсина L в ремоделировании стенки вены при варикозной болезни на более ранних

стадиях, и катепсина Н – на более поздних.

Впервые установлено статистически значимое повышение уровня окисленной модификации белков в гомогенате варикозно расширенных вен у пациентов с клиническим классом ХЗВ С1-С2, что указывает на роль окислительного стресса на ранних этапах варикозной трансформации.

### **Анализ структуры диссертационной работы**

Автором последовательно обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость, методология, положения, выносимые на защиту, а также сведения о степени достоверности, апробации, личном вкладе и публикациях.

В первой главе представлен квалифицированный обзор 220 источников, отражающий современные данные об ИЛ-13, TGF- $\beta$ 1, лизосомальных цистеиновых протеиназах, окислительной модификации белков и вчСРБ. Объем проанализированной литературы свидетельствует о глубокой проработке темы.

Во второй главе дана характеристика групп пациентов с заболеваниями сосудов нижних конечностей (варикозная болезнь и атеросклероз). Пациенты с варикозным расширением вен нижних конечностей распределены по классификации CEAP (С1–С6). Методологический раздел отражает адекватность дизайна исследования поставленным задачам. Подробно описаны современные биохимические методы (иммуноферментный анализ, спектрофлуориметрия, фотоколориметрия).

В третьей главе установлены ассоциации варикозной болезни с изменением изучаемых показателей в зависимости от классификации CEAP. Выявлены разнонаправленные изменения уровней ИЛ-13 и TGF- $\beta$ 1, активности катепсинов (В, L, Н), вчСРБ и окислительной модификации белков в гомогенате вен и сыворотке крови. Обнаружены сильные положительные корреляции между ИЛ-13, TGF- $\beta$ 1, катепсинами и окислительной модификацией белков, преимущественно при ХЗВ С3–С4.

В четвертой главе обосновано, что на ранних стадиях (С1–С2)

преобладают окислительные и протеолитические процессы, тогда как при классах С3–С4 развиваются фиброзные изменения и воспаление. Отмечено повышение TGF- $\beta$ 1 в гомогенате вен при его снижении в крови, а также нарастание vCRP в обеих биологических средах. У пациентов с классом С3–С4 зафиксировано снижение резервной антиоксидантной способности.

Выводы аргументированы и полностью соответствуют полученным результатам.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и отражает её основные положения, результаты и выводы, даёт полное представление о работе.

### **Публикации результатов исследования в научных изданиях**

По материалам исследования опубликовано 9 научных работ, из них 6 – в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований. Фрагменты диссертационного исследования были представлены на Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием.

### **Замечания и вопросы к диссертационной работе**

В целом, работа заслуживает положительной оценки. Принципиальных замечаний к диссертационной работе Липиной М.Г. нет.

При прочтении диссертации к диссертанту возникли следующие вопросы:

1. Каким образом в работе обеспечивалась стандартизация процедуры забора венозной ткани: учитывались ли анатомическая локализация, морфологическая неоднородность сосудистой стенки и возможные различия в степени ремоделирования, способные повлиять на полученные биохимические показатели?

2. В работе уровень TGF- $\beta$ 1 в сыворотке крови определялся методом ИФА. Однако, известно, что в циркуляции TGF- $\beta$ 1 преимущественно

присутствует в латентной форме и в значительной степени депонирован в тромбоцитах, вследствие чего его измеряемая концентрация существенно зависит от условий забора крови, активации тромбоцитов и этапов пробоподготовки. В связи с этим уточните, пожалуйста: определяли ли вы активную форму TGF- $\beta$ 1 или общий уровень цитокина?

3. В обзоре литературы автор справедливо отмечает двойственный характер биологических эффектов IL-13, включая его как про-, так и противовоспалительные свойства. Однако в разделе обсуждения полученных результатов данное противоречие, на мой взгляд, не получает однозначного разрешения. В частности, выявленное снижение уровня IL-13 на фоне повышения вчСРБ у пациентов с классом ХЗВ С3–С4 может свидетельствовать скорее о его потенциальной противовоспалительной роли, утрачиваемой при прогрессировании заболевания. Какова, по вашему мнению, итоговая патогенетическая роль IL-13 в варикозной болезни - про- или противовоспалительная, и каким образом ваши данные позволяют сделать этот вывод?

### **Заключение**

Диссертация Липиной Марии Григорьевны «Взаимосвязь IL-13 и TGF- $\beta$ 1 с активностью катепсинов и показателями воспаления у пациентов с варикозным расширением вен нижних конечностей», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – выявление взаимосвязей цитокинов с активностью катепсинов и показателями воспаления в ремоделированной венозной стенке при варикозной болезни вен, имеющей важное значение для развития современной биохимии и сердечно-сосудистой хирургии.

Диссертация соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением

Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Липина Мария Григорьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 1.5.4. Биохимия, 3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия.

**Официальный оппонент:**

заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Воронежский государственный медицинский  
университет имени Н.Н. Бурденко»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
доктор медицинских наук,  
доцент

07.05.2016

Котова Юлия Александровна

Подпись д.м.н., доцента Котовой Ю.А. заверяю:

учёный секретарь учёного совета  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Воронежский государственный медицинский  
университет им. Н.Н. Бурденко»  
доктор медицинских наук, доцент



Титова Лилия Александровна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Воронежский государственный медицинский  
университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской  
Федерации,

Адрес: 394036, г. Воронеж, ул. Студенческая, д. 10

Телефон: +7 (473)259-89-90

e-mail: mail@vrngmu.ru