

ОТЗЫВ

официального оппонента,

доктора медицинских наук Тодорова Сергея Сергеевича на диссертацию Веревкина Александра Александровича на тему «Патоморфологическая и иммунофенотипическая характеристика миокарда при отторжении сердечного трансплантата», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа А.А. Веревкина посвящена характеристике патоморфологических и иммунофенотипических изменений в миокарде при различных формах отторжения пересаженного сердца.

Известно, что трансплантация сердца остаётся единственным эффективным методом лечения пациентов в терминальной стадии хронической сердечной недостаточности. Качество и продолжительность жизни реципиентов существенно зависят от отторжения трансплантата, с которым сталкиваются все пациенты, перенесшие пересадку. Иммуносупрессивная терапия, пожизненно проводимая реципиентам, имеет ряд существенных побочных явлений – эндокринные нарушения, вторичные иммунодефициты и инфекции. Поэтому важной задачей в послеоперационном ведении лиц, перенесших пересадку сердца, является оптимизация режима иммуносупрессии.

Традиционно для диагностики отторжения пересаженного сердца используется эндомиокардиальная биопсия с последующим гистологическим и иммуногистохимическим исследованием образцов и их визуальной оценкой. Однако существующие критерии диагностики антитело-опосредованного и смешанного клеточно-гуморального отторжения нуждаются в дополнении, которое бы позволило сделать дифференциальную диагностику этих состояний более точной. Визуальная оценка результатов гистологического или иммуногистохимического исследования несёт в себе субъективный, так называемый «человеческий», фактор, который связан с невозможностью однозначной трактовки найденных патоморфологических изменений.

Кроме того, будучи по природе только качественной оценкой, она не даёт представления о количественных параметрах элементов клеточного инфильтрата или распространённости патоморфологических изменений. В связи с этим целесообразным представляется применение компьютерной морфометрии с разработкой алгоритмов автоматического и полуавтоматического морфометрического анализа изображений клеток и тканей, а также количественных критериев повреждения миокарда.

Учитывая необходимость поиска новых критериев смешанного клеточно-гуморального отторжения, а также уточнения количественных критериев антитело-опосредованного отторжения наряду с разработкой алгоритма компьютерной морфометрии, позволяющего дать количественную характеристику реакции отторжения в полуавтоматическом или автоматическом режиме, актуальность диссертации А.А. Веревкина не вызывает сомнений.

Степень обоснованности научных положений и выводов, достоверность полученных результатов

Научные положения диссертационной работы обоснованы грамотным методологическим подходом к исследованию. Достоверность полученных автором результатов основана на достаточном объеме выборки, использовании как классических гистологических методов исследования, так и современных методов иммуногистохимии. Результаты исследования проиллюстрированы большим количеством микрофотографий, графиков и таблиц.

Научная обоснованность положений и выводов, сформулированных в диссертации, подтверждается также проведенным с помощью современных адекватных методов статистики корректным анализом фактического материала: характер распределения оценивался с помощью критерия Шапиро-Уилка, достоверность различия выборочных средних проверялась с использованием критерия Крамера-Уэлча. Для оценки взаимосвязи различных параметров внутри одной и той же группы больных использовался линейный корреляционно-регрессионный анализ с определением коэффициента детерминации и коэффициента эластичности.

Достоинством работы является использование программного морфометрического анализа, при котором было произведено несколько тысяч измерений, что определяет объективность проделанной работы.

Полученные автором результаты можно считать достоверными и значимыми. Выводы логично вытекают из содержания работы.

Научная новизна исследования

В ходе исследования установлено, что при отсутствии морфологических и иммуногистохимических признаков отторжения в трансплантате пересаженного сердца выявляется наиболее высокий уровень экспрессии эндотелиальных молекул клеточной адгезии CD31. Автором показано, что наиболее ранние признаки клеточного отторжения трансплантата – снижение экспрессии CD31 с появлением стеатоза кардиомиоцитов. Величина экспрессии молекул CD31 продолжает снижаться с нарастанием тяжести отторжения и сопровождается прогрессирующим развитием кровоизлияний в сердечной мышце.

На основании компьютерного морфометрического имидж-анализа получены данные о том, что отторжение трансплантированного сердца сопровождается формированием в воспалительном инфильтрате миокарда клеточных коопераций, в которых участвуют Т-лимфоциты, В-лимфоциты, макрофаги и нейтрофильные гранулоциты. При всех формах отторжения преобладают Т-лимфоциты, однако по мере возрастания тяжести отторжения их относительное содержание уменьшается, а доля В-лимфоцитов, макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов увеличивается.

Установлено, что выраженность фиброза в миокарде пересаженного сердца имеет высокую прямую зависимость от величины экспрессии рецептора комплемента CD21. Автор объясняет наблюдаемое явление увеличением продолжительности жизни В-лимфоцитов, вырабатывающих факторы роста фибробластов, которые, в свою очередь, ускоряют ремоделирование сердечной мышцы. Возрастание экспрессии CD21 по мере нарастания тяжести отторжения предлагается использовать в качестве предиктора развития хронической сердечной недостаточности у реципиентов сердца.

Также при анализе корреляционных взаимоотношений выявлено, что повышение экспрессии плазменных компонентов комплемента C3d и C4d в миокарде пересаженного сердца отражает активацию системы комплемента и сопровождается возрастанием интенсивности некроза как при антитело-опосредованном, так и при клеточном отторжении.

Значимость для науки и практики

Эти результаты целесообразно использовать в образовательном процессе изучении фундаментальных дисциплин, таких как патологическая анатомия или патологическая физиология, так и при подготовке врачей-патологоанатомов, кардиохирургов и кардиологов. В клинической практике результаты исследования могут быть применены для повышения точности эндомикардиальной биопсийной диагностики формы и степени тяжести отторжения сердечного трансплантата. Разработанный алгоритм компьютерного морфометрического анализа изображения тканевых структур позволяет получить объективную количественную характеристику компонентов воспалительного клеточного инфильтрата, а также распространенности патологических процессов в миокарде, что можно использовать в рутинной практике патологоанатомических отделений.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа объемом 138 страниц машинописного текста построена по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, изложение полученных результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа содержит 18 таблиц и 58 рисунков. Список

использованных литературных источников содержит 224 работы, из которых 35 принадлежат российским авторам.

Во **введении** автором раскрыта и доказана актуальность темы диссертации, степень ее разработанности. Диссертантом четко сформулирована цель исследования, для реализации которой предусматривается решение 6 конкретных задач. Данный раздел содержит сведения о научной новизне, теоретической и практической значимости работы. Здесь же сформулированы положения, выносимые на защиту, которые обоснованы грамотным методологическим подходом к исследованию. Представлена информация об апробации работы и публикациях, результатах внедрения исследования в педагогический процесс, научную и практическую работу, отражен личный вклад автора в данную работу.

В **главе 1** диссертации представлен аналитический обзор данных литературы по изучаемой проблеме. Глава состоит из трех частей, в которых освещается современный подход к патоморфологической диагностике отторжения пересаженного сердца, а также приводятся показания и побочные действия эндомикардиальной биопсии и возможности компьютерной морфометрии. На основании критического анализа данных в тексте обзора выделены нерешенные вопросы и обоснована необходимость диссертационного исследования.

Глава 2 посвящена описанию материала и методов исследования. В ней приведена полная характеристика исследованного материала, в необходимом объеме дано описание использованных методов исследования, среди которых классические методы гистологического исследования, иммуногистохимический метод, а также методы статистической обработки, полностью соответствующие характеру проводимых исследований. Автор приводит панель использованных в исследовании первичных антител с указанием клона, фирмы, страны производителя, разведения, демаскировки антигенных детерминант, времени и условий инкубации, что обеспечивает воспроизводимость полученных результатов.

Глава 3 содержит описание полученных результатов, которое составляет основную часть работы (45 стр.). Глава состоит из шести основных разделов. В *первом и шестом разделах главы 3* приведены результаты проверки выборочных значений на характер распределения, а также результаты корреляционно-регрессионного анализа

Во втором - пятом разделах главы 3 представлена патоморфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндомикардиальных биоптатов реципиентов сердца.

Результаты полученных исследований документированы микрофотографиями, графиками и таблицами, что подтверждает их объективность. Наличие резюме в конце главы существенно облегчает анализ полученных данных по каждому этапу исследования. В целом, представленные результаты характеризуются новизной и оригинальностью.

В главе 4 автором на 10 страницах текста выполнен всесторонний анализ собственных данных и проведено сопоставление полученных результатов с имеющимися в литературе сведениями, что позволило сформулировать положения, выносимые на защиту и выводы, основанные на всесторонней характеристике патоморфологических и иммунофенотипических изменений в миокарде при различных формах отторжения пересаженного сердца с применением компьютерной морфометрии, это подчеркивает ценность и новизну исследования А.А. Веревкина.

Заключение основано на полученных результатах и их анализе, автор подводит итоги диссертационного исследования и обозначает перспективные направления дальнейшей разработки темы исследования.

Полученные результаты позволили автору сформулировать шесть выводов, которые соответствуют цели и задачам исследования. Автореферат соответствует материалам диссертации и полностью отражает ее содержание.

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По материалам диссертации опубликовано 9 работ, 4 из которых - в журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию работы А.А. Веревкина нет. В процессе знакомства с диссертацией возникли следующие вопросы:

1. Почему для морфометрического анализа было выбрано именно приложение ImageJ?
2. Чем именно был обусловлен выбор дополнительных иммуногистохимических маркеров?

Предлагаемые вопросы не сказываются на общем хорошем уровне диссертационного исследования и носят исключительно дискуссионный характер.

Заключение

Таким образом, диссертационное исследование Александра Александровича Веревкина «Патоморфологическая и иммунофенотипическая характеристика миокарда при отторжении сердечного трансплантата», выполненное под руководством д.б.н. профессора А.А. Славинского (научный консультант – д.м.н. доцент Е.Д. Космачева), является завершенной научно-квалификационной работой и содержит решение актуальной научной задачи - охарактеризовать патоморфологические и иммунофенотипические изменения в миокарде при различных формах отторжения пересаженного сердца с применением компьютерной морфометрии для количественного анализа эндомиокардиальных биоптатов, что имеет существенное значение для патологической анатомии.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов работа А.А. Веревкина соответствует требованиям п.9-14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 (в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21.04.2016, от 28.08.2017г. №1024, 01.10.2018 №1168), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Веревкин Александр Александрович, заслуживает присвоения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 - патологическая анатомия.

Руководитель морфологического отдела
клиника федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Ростовский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук по специальности
14.03.02 – патологическая анатомия,
Сергей Сергеевич Тодоров



« 29 » 03 2021

344022 г. Ростов-на-Дону,
переулок Нахичеванский, 29;
+7(863)2853213,

sertodorov@yandex.ru



Тодоров С.С.

Королева И.

СВЕДЕНИЯ
об официальном оппоненте по диссертации
Веревкина Александра Александровича
на тему «Патоморфологическая и иммунофенотипическая
характеристика миокарда при отторжении сердечного трансплантата»

На соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.02 – патологическая анатомия.

Фамилия, имя, отчество	Год рождения, гражданство	Место основной работы (организация, должность), адрес места работы, адрес электронной почты, телефон	Ученая степень (шифр специальности, по которой защищена диссертация)	Ученое звание	Основные работы по профилю оппонируемой диссертации в рецензируемых журналах (за последние 5 лет)
Тодоров Сергей Сергеевич	1970, РФ	Клиника Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, морфологический отдел; руководитель	Доктор медицинских наук 14.03.02 – патологическая анатомия	-	1. Тодоров С.С., Дюжиков А.А., Дерибас В.Ю., Казьмин А.С., Тодоров С.С.Мл. Интимальная гиперплазия внутренней грудной артерии при реваскуляризации миокарда // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2020. Т. 13. № 6. С. 497-501. 2. Тодоров С.С. Роль гладких мышечных клеток и макрофагов в развитии осложненных форм атеросклероза артерий // Кардиология. 2019. Т. 59. №1. С. 57-61. 3. Тодоров С.С., Сидоров Р.В., Дерибас В.Ю., Казьмин А.С., Кузнецов И.И., Насытко А.Д., Осипова А.В. К вопросу о гистогенезе миксомы сердца // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 1. С. 52.

		отдел; руководитель отдела; 344022 г. Ростов-на-Дону, переулок Нахичеванский, 29; +7(863)2853213, setodorov@yandex.ru		Шлык И.Ф. Роль гликозаминогликанов в развитии интимальной гиперплазии при шунтировании коронарных артерий // Медицинский вестник Юга России. 2018. Т. 9. № 3. С. 94-98. 5. Тодоров С.С. Клеточно-межклеточные взаимоотношения в различных отделах аорты после реконструктивных операций при коарктации у детей первого года жизни // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2017. Т. 21. № 2. С. 52-59. 6. Тодоров С.С., Сидоров Р.В., Щетко В.Н., Шлык И.Ф., Пospelов Д.Ю. Роль клеточно- межклеточных взаимоотношений в развитии интимальной гиперплазии внутренней грудиной артерии // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. 2017. Т. 12. № 3. С 70-72.
--	--	---	--	---

Согласен на обработку персональных данных.

Официальный оппонент

Сергей Сергеевич Тодоров

11 марта 2021 года

М.П.



Тодорова С.С.
Тодоров
Тодорова С.С.