

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Рязанский
государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук,

профессор Калинин Р. Е.

«03» сентября 2019 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет имени
академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация «Клинико-функциональная оценка роли митохондриальной дисфункции при обострении хронической обструктивной болезни легких» выполнена на кафедре факультетской терапии с курсом терапии ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В период подготовки диссертации соискатель Бельских Эдуард Сергеевич являлся очным аспирантом кафедры факультетской терапии с курсом терапии ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В 2014 году окончил государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, по специальности «Лечебное дело».

Справка об обучении № 1655 выдана в 2019 году федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

С 2017 года по настоящее время работает на кафедре факультетской терапии с курсом терапии ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в должности ассистента.

Научный руководитель: Урясьев Олег Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра факультетской терапии с курсом терапии ФДПО, заведующий кафедрой.

Научный консультант: Звягина Валентина Ивановна, кандидат биологических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО, доцент кафедры.

По итогам обсуждения диссертации принято следующее заключение:

Актуальность темы исследования

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) в настоящее время является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности во всем мире. В настоящее время в ходе лечения ХОБЛ можно добиться уменьшения симптомов, частоты и тяжести обострений, увеличить толерантность к

физической нагрузке. Однако на сегодняшний день нет убедительных доказательств, что какой-либо из существующих лекарственных препаратов для терапии ХОБЛ позволяет остановить прогрессирующее снижение функции легких в долгосрочной перспективе. Таким образом, прогрессирующий характер заболевания, а также рост заболеваемости ХОБЛ, связанный со старением населения, постоянно увеличивает социальное и экономическое бремя ХОБЛ. Это обуславливает важность изучения патогенетических аспектов заболевания, которые могут быть использованы для персонализированного подхода и оптимизации терапии ХОБЛ.

Среди различных патогенетических аспектов воспаления при ХОБЛ в GOLD выделяется роль окислительного стресса, модифицирующего воспалительный процесс в легких, подчеркивается его взаимосвязь с обострением заболевания. Окислительный стресс (ОС) – процесс, связанный с образованием избыточного количества активных форм кислорода. Развитие ОС всегда взаимосвязано с функционированием митохондрий - органелл, использующих кислород в процессе клеточного дыхания, которые выполняют не только энергетические, но и регуляторные функции, в том числе регулируют процессы апоптоза. В связи с этим одним из перспективных направлений в изучении причин усиления воспалительного ответа и прогрессирующего характера заболевания является изучение выраженности митохондриальной дисфункции при ХОБЛ.

Установлено, что у пациентов с ХОБЛ хроническое воздействие сигаретного дыма способствует развитию системной митохондриальной дисфункции, определяемой в тканях легких, скелетной мускулатуры, а также в моноядерных лейкоцитах крови. Одним из ключевых проявлений митохондриальной дисфункции является открытие митохондриальной поры проницаемости, что запускает и поддерживает в эпителиальных и гладкомышечных клетках процессы, ведущие к апоптозу, итогом которого становятся развитие хронической воспалительной реакции и ремоделирование бронхиальной стенки. Системный характер изменений в митохондриях при ХОБЛ, тесная взаимосвязь между дыхательной функцией легких и процессами

энергообразования в митохондриях обуславливает важность изучения маркеров митохондриальной дисфункции у больных ХОБЛ.

Стоит отметить, что под ХОБЛ в настоящее время понимают достаточно широкий комплекс гетерогенных синдромов с легочными и внелегочными особенностями. При этом считается, что стандартных спирометрических показателей, используемых для диагностики, недостаточно для описания и классификации пациентов с ХОБЛ. Поэтому для оптимального выбора терапии пациентов пытаются выделять отдельные подгруппы в соответствии с прогнозом и ответом на терапию – фенотипы. Несмотря на то, что в настоящее время нет единой принятой классификации фенотипов ХОБЛ, в большинстве новых предлагаемых вариантов среди ключевых классификационных критериев подчеркивается частота обострений и наличие изменений анатомической структуры легких, таких как эмфизема или бронхоэктазии. Исследование показателей митохондриальной дисфункции у больных ХОБЛ с различной выраженностью симптомов, значением ОФВ1/ФЖЕЛ, частотой обострений в анамнезе, наличием изменений структуры легких могло бы стать дополнительным критерием для определения фенотипа заболевания.

В настоящее время в клинической практике для оценки функционального состояния митохондрий используются молекулярно-генетические методы, а также широко применяются биохимические исследования: измерение активности митохондриальных ферментов и концентрации их субстратов, определение уровня продуктов свободнорадикального окисления в крови. Среди подходов, применяемых для оценки биоэнергетических процессов митохондрий весьма информативным считается является измерение митохондриального мембранного потенциала. Уменьшение уровня разности потенциалов внутренней мембраны митохондрий указывает на развитие дисфункционального состояния митохондрий, и может служить одним из основных показателей инициации митохондриального пути апоптоза. Большое значение при проведении исследований в клинической практике имеет выбор малоинвазивных способов

диагностики. Так, наиболее удобным объектом для исследования функционирования митохондрий являются моноядерные лейкоциты периферической крови, которые, по многочисленным литературным источникам, способны отражать системные изменения, протекающие в организме.

Исходя из вышесказанного, представляется целесообразным изучение степени выраженности митохондриальной дисфункции и её взаимосвязи с нарушением функции легких у больных ХОБЛ с различными клиническими фенотипами, так как полученные данные помогут существенно расширить представления о патогенезе заболевания и будут полезны при разработке митохондриально-ориентированной терапии.

**Личное участие соискателя в получении результатов,
изложенных в диссертации**

Все результаты диссертационного исследования получены автором самостоятельно или при непосредственном участии: набор клинического материала, функциональные и лабораторные исследования, статистическая обработка полученных данных. Формулировка целей и задач, интерпретация результатов работы проводилась совместно с научным руководителем, научным консультантом.

Автором были обследованы 107 субъектов, включая 58 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких, 24 больных с хроническим обструктивным бронхитом и 25 здоровых добровольцев.

Объем и характер заимствованных фрагментов текста диссертации позволяют считать их законными цитатами.

Степень достоверности результатов проведенных исследований

Диссертационная работа выполнена на современном научном уровне с использованием статистических методов: программа StatSoftStatistica 10.0. Для оценки нормальности распределения в группах размером $n < 50$ использовали критерий Шапиро-Уилка, в группах с размером $n > 50$ – критерий Колмогорова-Смирнова. При ненормальном распределении показатели характеризовали с помощью медианы (Me), первого и третьего квартиля (Q1 и

Q3). При нормальном распределении величин группы описывали с использованием среднего значения (M) и стандартного отклонения (s). При ненормальном распределении для 2-х групп оценку значимости различий проводили с использованием критерия Манна-Уитни. При ненормальном распределении для множественных сравнений использовали критерий Краскела-Уолли, с последующим попарным сравнением с применением критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. При нормальном распределении и отсутствии различий дисперсий использовались однофакторный дисперсионный анализ с последующим использованием критерия Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений, для сравнения 2-х групп - критерий Стьюдента. Анализ корреляционных взаимосвязей осуществлялся с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали отличия исследуемых показателей при вероятности нулевой гипотезы об отсутствии различий $p < 0,05$.

В работе использованы современные подходы для оценки функции внешнего дыхания, определения выраженности симптомов с помощью опросников, выделения моноядерных лейкоцитов крови, определения активности сукцинатдегидрогеназы и супероксиддисмутазы, концентрации сукцината и уровня окислительной модификации белков с использованием спектрофотометрических методик, определение митохондриального мембранного потенциала методом проточной цитофлуориметрии с использованием катионного красителя JC-1, адекватные цели и задачам исследования.

Научные положения, выводы и рекомендации основаны на достаточном объеме исследуемых со статистической обработкой результатов с помощью программ StatSoft Statistica 10, СХР.

Достоверность первичных материалов подтверждена их экспертной оценкой и не вызывает сомнений. Научные положения, полученные выводы и практические рекомендации достаточно обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. В исследовании использован достаточный объем литературных источников как отечественных, так и иностранных авторов.

Новизна результатов проведенных исследований

Оценено значение митохондриального мембранного потенциала моноядерных лейкоцитов крови у больных при обострении ХОБЛ;

Исследована взаимосвязь показателей митохондриальной дисфункции моноядерных лейкоцитов крови и показателей функции легких у больных с ХОБЛ в зависимости от степени тяжести заболевания;

Проведена комплексная оценка окислительной модификации белков мононуклеарных лейкоцитов у больных с обострением ХОБЛ различной степени тяжести различных групп риска;

Исследованы показатели сукцинат-опосредованного механизма быстрой адаптации митохондрий к гипоксии моноядерных лейкоцитов крови у больных ХОБЛ различной степени тяжести и различных групп риска;

Исследовано значение отказа от курения для функционирования митохондрий моноядерных лейкоцитов у больных с обострением ХОБЛ.

Практическая значимость результатов проведенных исследований

Результаты исследования позволили выявить изменение показателя мембранного потенциала мононуклеарных лейкоцитов крови как маркера системной митохондриальной дисфункции при ХОБЛ. Выявленные корреляционные связи маркеров окислительной деструкции белков мононуклеарных лейкоцитов с клиническими характеристиками больных с ХОБЛ создают предпосылки для разработки методов направленных на раннюю диагностику больных с фенотипом ХОБЛ с частыми обострениями. Полученные сведения о связи активности сукцинатдегидрогеназы и концентрации уровня сукцината с уровнем симптомов у больных ХОБЛ могут быть использованы для оценки возможностей адаптации пациентов к развитию гипоксемии и дыхательной недостаточности.

Ценность научных работ соискателя

Полученные результаты дополняют представление о роли вторичной митохондриальной дисфункции и сукцинат-опосредованном механизме быстрой адаптации митохондрий к гипоксии при различных клинико-функциональных особенностях у больных ХОБЛ с обострением заболевания.

Полученные результаты могут стать основой для дальнейших исследований, посвящённых выявлению эндотипов хронической обструктивной болезни легких различающихся возможностями адаптации к острой и хронической дыхательной недостаточности, а так же послужить начальным этапом для выделения маркера - критерия эффективности митохондриально-ориентированной терапии ХОБЛ и других хронических воспалительных заболеваний связанных с вторичной митохондриальной дисфункцией.

Специальность, которой соответствует диссертация

Диссертация посвящена актуальной проблеме внутренних болезней - изучению роли митохондриальной дисфункции при хронической обструктивной болезни легких. Она соответствует паспорту специальности 14.01.04 - Внутренние болезни.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, полно отражающих основные положения диссертации, в том числе 3 статьи в журналах перечня ВАК при Минобрнауки России.

1.Бельских Э.С. Исследование окислительного стресса и функции митохондрий в мононуклеарных лейкоцитах крови у больных с хроническим бронхитом и с хронической обструктивной болезнью легких [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, В.И. Звягина, С.В. Фалетрова // Наука молодых - *Eruditio Juvenium*. — 2018. — Т.6, № 2. — С. 203-210.

2.Фалетрова С.В. Клинико-функциональные особенности хронической обструктивной болезни легких у пациентов с ожирением [Текст] / С.В. Фалетрова, Л.В. Коршунова, Э.С. Бельских // Наука молодых - *Eruditio Juvenium*. — 2018. — № 3. — С. 439-447.

3.Бельских Э.С. Развитие вторичной митохондриальной дисфункции мононуклеарных лейкоцитов крови у больных хронической обструктивной болезнью легких и хроническим бронхитом [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, В.И. Звягина, С.В. Фалетрова // Казанский медицинский журнал. — 2018. — № 5. — С. 741-747.

4.Бельских Э.С. Изучение показателей митохондриальной дисфункции у больных с хронической обструктивной болезнью легких [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, В.И. Звягина, С.В. Фалетрова // Сборник тезисов XIII Национального конгресса терапевтов. Москва, 21-23 ноября. — 2018. —С. 161-162.

5.Бельских Э.С. Развитие вторичной митохондриальной дисфункции мононуклеарных лейкоцитов крови у больных хронической обструктивной болезнью легких и хроническим бронхитом [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, В.И. Звягина, С.В. Фалетрова, Н.А. Попко, С.Р. Ахмедова // Земский врач. — 2018. — № 1. — С. 23-26.

6.Бельских Э.С. Комплексная оценка карбонильных производных белков в митохондриях лимфоцитов крови у больных с хронической обструктивной болезнью легких и хроническим бронхитом [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, В.И. Звягина // «Здоровье человека в XXI веке» X Юбилейная Российская научно-практическая конференция с международным участием. Сборник научных статей. Казань, 30-31 марта. — 2018. — № 5. — С. 382-386.

7.Бельских Э.С. Изучение митохондриальной дисфункции мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у больных с хронической обструктивной болезнью легких [Текст] / Э.С. Бельских, О.М. Урясьев, В.И. Звягина, О.Н. Журина, В.Г. Демихов, М.И. Токар // Инновационные технологии в медицине: взгляд молодого специалиста: материалы IV Всероссийской научной конференции молодых специалистов, аспирантов, ординаторов с международным участием / ред. кол.: Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, Е.В. Филиппов, И.А. Федотов; ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: ОТСиОП. — 2018. — С. 88-90.

8.Бельских Э.С. Сравнительная оценка уровня окислительного стресса у пациентов с бронхиальной астмой и синдромом перекреста бронхиальной астмы и хронической обструктивной болезни легких [Текст] / Э.С. Бельских // VII международный молодежный медицинский конгресс «Санкт-Петербургские научные чтения-2017», 6-8 декабря. — 2017. —С. 62.

9.Бельских Э.С. Развитие вторичной митохондриальной дисфункции мононуклеарных лейкоцитов крови у больных хронической обструктивной болезнью легких и хроническим бронхитом [Текст] / Э.С. Бельских, С.Р. Ахмедова, К.С. Ермоленко, П.Д. Ерохина, Н.А. Попко, В.И. Звягина // Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации Сборник материалов всероссийской научно-практической конференции с международным участием /Под общ. ред. С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А.Киселевой. Орехово-Зуево, 30-ноября- 1декабря. — 2017. — С. 22-23.

Диссертация «Клинико-функциональная оценка роли митохондриальной дисфункции при обострении хронической обструктивной болезни легких» Бельских Эдуарда Сергеевича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.04 – Внутренние болезни.

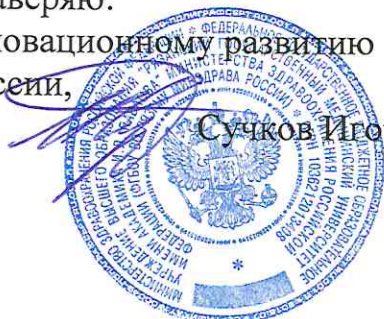
Заключение принято на заседании кафедр факультетской терапии с курсом терапии ФДПО, биологической химии с курсом КЛД ФДПО, внутренних болезней, фтизиатрии с курсом лучевой диагностики, общественного здоровья и здравоохранения с курсом организации здравоохранения ФДПО, медицины катастроф и скорой медицинской помощи ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. Присутствовало на заседании 25 человек профессорско-преподавательского состава. Результаты голосования: «за» - 25 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет (протокол № 1 от 27 мая 2019 г.).

Председатель межкафедрального совещания,
заведующий кафедрой фтизиатрии с
курсом лучевой диагностики
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
д.м.н., профессор



Добин Виталий Лазаревич

Подпись профессора Добина В.Л. заверяю:
проректор по научной работе и инновационному развитию
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России,
д.м.н., профессор



Сучков Игорь Александрович