

**УТВЕРЖДАЮ**



Директор федерального  
государственного  
бюджетного учреждения  
«Национальный медицинский  
исследовательский центр имени  
академика Е.Н. Мешалкина»  
Министерства Здравоохранения  
Российской Федерации

Академик РАН А.М. Караськов  
« 7 » сентября 2017 г.

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической значимости диссертации Плехановой Ольги Сергеевны «Роль урокиназного активатора плазминогена в ремоделировании кровеносных сосудов», представленной в диссертационный совет Д 208.084.05 при ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

#### **Актуальность темы**

Исследование Плехановой О.С. обусловлено тем, что детальное изучение клеточных, молекулярных и генетических механизмов неблагоприятного констриктивного ремоделирования сосудов является актуальной задачей современной медицины. Это связано с тем, что в основе смертности от сердечно-сосудистых заболеваний лежит прогрессирование атеросклероза в сосудистой стенке с последующим развитием стеноокклюзионного процесса и инфарктов кровоснабжаемых органов. Подробное изучение механизмов атерогенеза позволит определить эффективные мишени для лекарственных воздействий и разработки современных подходов к предотвращению неблагоприятного ремоделирования кровеносного русла.

Активатор плазминогена урокиназного типа (урокиназа) является многофункциональным белком, ключевая роль которого в процессах

перестройки сосудистой стенки до настоящего времени оставалась неизвестной. Многоуровневое изучение роли урокиназы в процессах констриктивного ремоделирования важно, как для понимания фундаментальных механизмов перестройки сосудистой стенки в организме, так и для решения важнейшей задачи современной медицины, - локальной регуляции процессов ремоделирования артерий.

Немаловажным является и тот факт, что разработка новых высокоинформативных диагностических систем для выявления пациентов с увеличенным риском возврата стенокардии после процедур эндоваскулярной реваскуляризации является очень важной задачей. Её решение позволит оценивать риски возобновления стенокардии и разработки персонализированных подходов к лечению пациентов данной категории.

Таким образом, все вышеизложенное свидетельствует о высокой актуальности изучения роли урокиназного активатора плазминогена в процессах перестройки кровеносных сосудов с целью разработки новых эффективных и патогенетически обоснованных подходов к прогнозированию и коррекции неблагоприятного ремоделирования стенки артерий.

### **Связь с планом научных исследований**

Настоящая работа выполнена на кафедре биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова» в соответствии с планом научно-исследовательских работ факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В. Ломоносова».

### **Новизна исследования и полученных результатов**

Впервые получены данные о механизмах, определяющих уникальную роль урокиназы в процессах ремоделирования кровеносных сосудов. Для изучения роли урокиназы были использованы различные подходы и модели, что позволило получить свидетельства того, что урокиназа является обязательным участником развития атеросклероза, рестеноза и реакции сосуда на повреждение, а также важным регулятором, опосредующим констриктивное ремоделирование артерий. Данные полученные в исследовании оригинальны и

не имеют аналогов в мировой литературе. Наиболее интересным результатом является то, что в работе впервые была установлена ключевая роль протеолитических свойств урокиназы для констриктивного ремоделирования сосудов и выявлено разнонаправленное влияние тканевого и урокиназного активаторов плазминогена на эти процессы в живом организме.

Плехановой О.С. было также впервые показано, что урокиназа стимулирует фенотипическую трансформацию фибробластов в миофибробласты и их аккумуляцию в поврежденной адвентиции. Важнейшим результатом диссертации является то, что обнаружен новый механизм стимуляции урокиназой деления гладкомышечных клеток сосудов за счет образования активных форм кислорода. Получены новые данные о том, что урокиназа повышает экспрессию в стенке артерии про-воспалительного цитокина - фактора некроза опухоли альфа. Автором обнаружено, что урокиназа усиливает экспрессию матриксных металлопротеиназ 2 и 9 типов в поврежденной сосудистой стенке, тогда как тканевой активатор плазминогена способствует подавлению экспрессии матриксной металлопротеиназы 2 типа. В диссертации показана предикторная значимость урокиназы для рецидива стенокардии у пациентов после транслюминальной баллонной ангиопластики.

#### **Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертация О.С. Плехановой выполнена на высоком методическом уровне при изучении достаточного объема фактического материала, включающего пациентов с ишемической болезнью сердца, аутопсийного материала, лабораторных животных и культуры клеток. В работе использован большой спектр современных методов и подходов, адекватных целям и задачам исследования. Так, с помощью иммуногистохимии на серийных срезах были проведены исследования на аутопсийном материале аорт человека с разными типами атеросклеротических поражений; у пациентов с ИБС было определено содержание урокиназы и активность ее ингибитора в плазме крови с помощью иммуноферментного анализа и фотометрии. Были отработаны экспериментальные модели баллонного повреждения сонной артерии крысы,

изолированного повреждения адвентиции сонной артерии крысы, модель ремоделирования сосудов при снижении кровотока в общей сонной артерии, оригинальный метод введения в сосудистую стенку белковых препаратов с использованием плуронического геля для их медленного высвобождения. Часть исследований проводилась в культуре гладкомышечных клеток и фибробластов. Были использованы разные варианты микроскопии, морфометрии и иммуногистохимии с применением методов компьютерной обработки изображений, электрофорез и иммуноблоттинг, зимография, полимеразная цепная реакция, метод транскрипционных матриц, методы регистрации образования активных форм кислорода и прочие. Применение разнообразных современных методов исследования в сочетании с адекватной статистической обработкой данных не вызывают сомнений в достоверности полученных результатов.

Научные положения, выводы и рекомендации основаны на достаточном количестве экспериментальных исследований со статистической обработкой результатов с помощью обширного набора современных программ. Для статистического анализа данных использовали разные программы, соответствующие изучаемому объекту (Jandel SigmaStat, One Way ANOVA, SAS, DNA-Chip Analyzer, Microarray Suite 5.0., SAM, GeneSpring).

Научные положения, выводы и рекомендации аргументированы, логически вытекают из представленных результатов. В исследовании использован большой объем современных литературных источников. Работа является итогом длительного изучения и личного вклада автора в разработку темы и апробирована на различных уровнях: международных и российских конгрессах и конференциях.

### **Значимость для науки и практики полученных результатов**

Высокая теоретическая и практическая ценность диссертации Плехановой О.С. определяется тем, что ее результаты являются научным достижением и вносят крупный вклад в биомедицинскую науку, расширяя фундаментальные знания о механизмах ремоделирования кровеносных сосудов,

а также способствуют более глубокому пониманию молекулярных механизмов действия активаторов плазминогена в этих процессах.

Сочетание различных подходов и экспериментальных моделей позволило получить свидетельства того, что урокиназа является обязательным участником развития атеросклероза, рестеноза и реакции сосуда на повреждение, а также уникальным регулятором перестройки сосудистой стенки, опосредующим констриктивное ремоделирование сосудов.

На основании данных, полученных Плехановой О.С., было установлено, что определение уровня урокиназы крови у пациентов с ишемической болезнью сердца до проведения процедур эндоваскулярной реваскуляризации позволяет выявить пациентов с высоким риском возобновления стенокардии. На основании данных о корреляции уровня урокиназы с риском возврата стенокардии после транслюминальной баллонной ангиопластики возможно создание диагностической системы для оценки риска возврата стенокардии. На основании данных, полученных Плехановой О.С. сформулированы практические рекомендации, которые актуальны и применимы в клинической работе.

Представленные результаты позволяют определить новые мишени для фармакологической и генно-терапевтической профилактики рестенозов, развивающихся после процедур эндоваскулярной реваскуляризации. Локальное ингибирование протеолитической активности урокиназы в сосудистой стенке является новым перспективным подходом к регуляции ремоделирования сосудов.

### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Целесообразно внедрение результатов и выводов данного исследования в практику работы кардиологических отделений лечебных учреждений, что позволит улучшить прогнозирование исходов процедур эндоваскулярной реваскуляризации. Полученные в ходе исследования результаты обнаруживают пути совершенствования тактики ведения пациентов со стенозирующим атеросклерозом путем определения уровня урокиназы для оценки риска возобновления стенокардии перед проведением процедур эндоваскулярной

реваскуляризации. Теоретические положения, сформулированные в диссертации, рекомендуется использовать в учебном процессе высших учебных заведений при изучении внутренних болезней, кардиологии, сердечно-сосудистой хирургии, медицинской биохимии. Дальнейшая разработка данного направления в научно-исследовательских институтах медицинского профиля поможет уточнить роль других участников молекулярных каскадов в процессах перестройки сосудов.

### **Внедрение результатов исследования**

В настоящее время результаты исследования внедрены в работу Медицинского научно-образовательного центра Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Федерального государственного бюджетного учреждения «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения РФ; используются в учебном процессе кафедры биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

### **Оценка содержания и оформления диссертации**

Диссертационная работа Плехановой Ольги Сергеевны построена традиционно, изложена на 280 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, главу «Материалы и методы исследования», собственные результаты и их обсуждение, заключение, выводы и практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений. Список литературы содержит 451 источник. Диссертация изложена четко, хорошим литературным языком. Таблицы и рисунки наглядны и информативны.

Во введении раскрыта актуальность темы исследования, сформулированы его цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные научные положения.

Первая глава представляет собой обзор литературы. В обзоре литературы структурированно и полно изложены современные представления о механизмах перестройки сосудистой стенки, освещены имеющиеся в литературе данные о роли урокиназного и тканевого активаторов плазминогена в этих процессах, описаны биологические функции урокиназы, ее основные взаимодействия и сигнальные пути; показаны нерешенные проблемы, обуславливающие актуальность настоящего исследования.

Вторая глава содержит подробное описание материалов и методов исследования, включая характеристику пациентов, аутопсийного материала, отработанные экспериментальные модели, современные биохимические, гистологические, молекулярные методы, а также методы статистической обработки разных массивов данных. Используемые материалы и методы исследования соответствуют поставленной цели и позволили эффективно решить сформулированные задачи.

В следующей третьей главе изложены собственные данные автора и их обсуждение. В разделе 3.1 представлены результаты исследования экспрессии урокиназы, ее рецептора и ингибитора в аортах человека при атеросклерозе. В этой же главе показана предикторная значимость компонентов системы фибринолиза у пациентов с ИБС для возобновления стенокардии после баллонной ангиопластики коронарных сосудов. В разделе 3.2 приведены результаты изучения роли урокиназы в развитии негативного ремоделирования сосудов, а именно уровень экспрессии урокиназы и ее рецептора в стенке повреждённой артерии, эффекты активаторов плазминогена на поврежденную сосудистую стенку, данные о выявленных механизмах, посредством которых урокиназа осуществляет свои функции регулятора процессов перестройки стенки артерии. Результаты получены на различных экспериментальных моделях, а именно на модели экспериментальной баллонной ангиопластики сонной артерии, изолированного периадвентициального повреждения сонных артерий, модели снижения кровотока в сонных артериях мыши. Также показана фенотипическая трансдифференцировка фибробластов в миофибробласты под действием урокиназы. Выявлено, что урокиназа способна стимулировать

образование активных форм кислорода в гладкомышечных клетках и их пролиферацию. Кроме того, отмечена стимуляция воспалительного и протеолитического каскадов в поврежденной сосудистой стенке под влиянием изучаемого фермента.

Заключение представлено в виде отдельного раздела, где автор подводит основные итоги исследования. Сформулированные выводы обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам, отражают результаты исследования, отличаются четкостью формулировок и обоснованностью. Предлагаемые практические рекомендации соответствуют результатам диссертации и могут быть использованы в практике.

**Подтверждение опубликования результатов диссертации в научных изданиях:**

Научные положения диссертации полностью отражены в 30 статьях, в том числе 17 статьях в российских журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, 13 статьях в зарубежных журналах, 1 главе в сборнике, 1 патенте на изобретение. Публикации в полной мере отражают основные положения диссертации.

**Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации:**

Автореферат полностью соответствует содержанию работы и оформлен согласно принятым требованиям.

В диссертационной работе имеются некоторые недочеты, а именно:

для улучшения логики изложения в пункте 3.1. было бы лучше представить сначала данные, полученные на пациентах с ИБС, а затем данные материала аутопсий. Кроме того, в заключительной части подраздела 3.1.1. на странице 105 желательно было написать краткое промежуточное заключение, обосновывающее переход к подразделу результатов 3.1.2. Также на с. 48 в разделе 1.3.2. излишне подробно представлены сведения о многочисленных сигнальных механизмах урокиназы. В разделе Методы, подраздел 2.3.3, с. 84, в также подраздел 2.3.4, с. 88 можно было более кратко изложить общеизвестные



методики иммуногистохимии и полимеразной цепной реакции, используя соответствующие ссылки. В представлении экспериментального материала также имеются недочеты, так, в таблице 9 на с. 160 неудачно подобран размер шрифта. На наш взгляд имеются стилистические погрешности, например, на с. 46, первое предложение, или с.71, подраздел 1.4 первое предложение, или с.213, первое предложение. Принципиальных недостатков и замечаний, однако, в рассматриваемой работе не выявлено. Выявленные недочеты не умаляют ценности представленных результатов. В целом все перечисленное выше позволяет дать анализируемой диссертационной работе О.С. Плехановой высокую оценку.

### **Заключение**

Диссертация Плехановой Ольги Сергеевны «Роль урокиназного активатора плазминогена в ремоделировании кровеносных сосудов» является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием. В ней сформулированы основные положения о механизмах ремоделирования кровеносных сосудов, что можно квалифицировать как научное достижение и крупный вклад в развитие биомедицинской науки. Разработка данного научного направления имеет важное медико-социальное значение и способствует улучшению качества лечения и предотвращения сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме того, результаты диссертационной работы Плехановой Ольги Сергеевны предлагают решение проблемы констриктивного неблагоприятного ремоделирования сосудов с помощью локального ингибирования протеолитической активности урокиназы, а также обеспечивают совершенствование прогнозирования рецидива стенокардии после баллонной ангиопластики.

По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов и обоснованности выводов диссертационная работа Плехановой Ольги Сергеевны соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утв. Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции

Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335), а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени доктора медицинских наук по специальности 03.01.04 – Биохимия.

Отзыв на диссертацию заслушан, обсужден и одобрен на заседании Экспертного совета федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 16 от 05.09.2017г.).

Заведующий лабораторией молекулярной и клеточной медицины ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России доктор биологических наук, профессор



Закиян С.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15 Тел.: +7 (383) 347–60–58, e-mail: [mail@meshalkin.ru](mailto:mail@meshalkin.ru)

Адрес: 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

Телефон: +7(383)347 60 58

Электронный адрес: [mail@meshalkin.ru](mailto:mail@meshalkin.ru)

Адрес в сети Интернет: <http://www.meshalkin.ru/>

Подписи д.б.н., профессора Закияна С.М. заверяю:

Заместитель директора по научной работе  
ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина»  
Минздрава России, член-корр.,  
профессор, д.м.н.



Ломиворотов В.В.