

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Зуйкова Сергея Александровича «Значение свободно-радикального окисления в патогенезе рака желудка», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы. Диссертационная работа С.А. Зуйкова посвящена изучению вклада процессов свободно-радикального окисления (СРО) в патогенез рака желудка, а так же в механизмах старения. Сегодня свободные радикалы (СР) рассматриваются в качестве источника многочисленных нарушений, приводящих к возникновению целого ряда болезней, в том числе онкологическим, а так же к преждевременному старению. Причем, по мере старения организма, активность СР возрастает, и риск развития различных болезней, сопряженных с возрастом, увеличивается. Известно, что возрастные изменения в любом органе являются результатом внутренних процессов в нем и влияний факторов экзогенной и эндогенной природы. Патогенез изменений слизистой оболочки желудка, который может привести к развитию рака, является сложным и многофакторным процессом, поэтому исследование молекулярных механизмов, лежащих в основе патогенеза опухолевого роста, несомненно, представляет собой актуальную задачу, решение которой будет в дальнейшем способствовать развитию новых подходов в терапии, а так же служить мотивацией для углубления знаний о биологии опухоли, необходимых для своевременной диагностики и поиска новых мишеней в онкологической практике.

Научная новизна работы. Диссертантом проведено комплексное изучение изменения активностей ферментативного звена антиоксидантной системы (АОС), пуринового обмена и метаболитов окислительной деструкции белков для оценки состояния окислительного стресса (ОС) у больных РЖ в зависимости от возраста и стадии рака. Установлены новые патогенетические связи между ферментами системы генерации СР и ферментами АОС, а так же продуктами СРО при опухолевой прогрессии. Обнаружена тесная взаимосвязь между метаболизмом пуриновых нуклеотидов в тканях и плазме крови. Соискателем впервые описан кооперативный эффект изменения исследуемых показателей свободно-радикального окисления, включая состояние ферментативных систем генерации активных форм кислорода и их анти-систем – механизмов нейтрализации свободных радикалов в плазме, клетках крови и гомогенатах тканей в корреляции с тяжестью течения рака желудка. Эти результаты расширяют имеющиеся представления о связи метаболических изменений в опухолевой ткани и в крови больных злокачественными новообразованиями.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа построена по классической схеме и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их

обсуждения, анализа и обобщения результатов исследования, выводов, списка использованных литературных источников. Диссертация написана на 194 страницах, содержит 13 таблиц, одну схему и 27 рисунков.

Во введении изложена актуальность выбранной соискателем проблемы, отмечается недостаточная освещенность вопроса в современной литературе, обосновывается необходимость продолжения исследований для совершенствования диагностических возможностей с учетом сведений о биологических особенностях течения рака желудка. Так же автор отмечает, что большинство известных молекулярно-биологических маркеров тем или иным образом влияют на биологические свойства опухоли, но их клиническая значимость при РЖ изучена недостаточно. Причем регуляция активностей ферментов прооксидантных систем (ПОС) и АОС – сложный и до сих пор до конца не изученный процесс, важнейшую роль в котором играют СР.

В первом разделе (обзор литературы) представлены исторические аспекты изучения проблемы. Довольно подробно проанализирована и описана классификация и роль СР в жизненно-важных процессах, таких как: регуляция клеточных процессов (клеточное деление, дыхание, апоптоз), регуляции экспрессии и активностей ферментов, поддержание иммунного статуса и др. Проанализировано множество систем генерации СР, однако ведущая роль в качестве показателя ПОС в работе отведена метаболизму пуринов, а точнее их распаду. Описывая конечные продукты СРО, автор подчеркивает роль не только как один из ранних и надежных маркеров ОС, но и их участие в регуляции про- и антиоксидантных систем, а так же в подавлении ряда генов, выступающих промоторами апоптоза и ингибиторами клеточного роста, тем самым обеспечивая защиту опухолевым клеткам, их рост и выживание.

Так же в обзоре литературы отмечено, что в настоящее время в научном сообществе нет единого мнения по поводу отрицательной или положительной роли про- и антиоксидантных систем в процессах старения и канцерогенеза. После каждой подглавы автор представляет собственный анализ современного состояния проблемы, чем подчеркивает актуальность вопроса и необходимость выполнения поставленных задач.

Обзор описан грамотным литературным языком, отражает тщательность автора в изучении проблемы и знания литературы. Список литературы содержит 359 источников (88 отечественных и 271 зарубежных авторов), что является достаточным для подробного анализа имеющихся в литературе данных.

Второй раздел диссертации (Материалы и методы исследования) посвящен общей характеристике больных, распределению больных по группам в зависимости от возраста и стадии РЖ, а так же методам биохимических исследований. Работа выполнена в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького», МЗ ДНР, г. Донецк. Все больные РЖ были обследованы в условиях 2-го

(общехирургического) отделений Донецкого областного клинического территориального медицинского объединения, а так же Донецкого областного противоопухолевого центра. Всего обследовано 35 больных РЖ: 28 мужчин и 7 женщин с различной стадией заболевания (I-IV стадия). Гистологической формой РЖ являлась аденокарцинома. Возраст всех обследуемых был от 40 до 79 лет (средний возраст у больных РЖ составил 60 лет). Группу контроля, для изученных показателей в плазме крови и эритроцитах, составили 80 здоровых добровольцев (52 мужчин и 28 женщин) той же возрастной группы, не имеющие онкозаболеваний и тяжелых патологий желудочно-кишечного тракта. Описана статистическая обработка данных распределения на нормальность обследованных групп, полное изложение протоколов приготовления образцов. Материалом исследования послужила плазма крови, гемолизат эритроцитов и гомогенаты тканей (опухолевой ткани и нетрансформированной смежной ткани слизистой желудка).

Методы исследования включали общепринятые биохимические методики определения активностей ферментов пуринового обмена – аденозиндезаминазы (АДА) и ксантиноксидазы (КО), которые характеризовали состояние ПОС, супероксиддисмутаза (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО) – показатели АОС, а так же концентрации нитратов/нитритов (NO_x), кетондинитрофенилгидразонов (КДНФГ) и альдегиддинитрофенилгидразонов (АДНФГ) нейтрального и основного характера) – как конечных метаболитов окислительной деструкции биомолекул, стимулируемое под действием ОС. Статистический анализ полученных результатов проведен с использованием лицензионного пакета прикладных программ Statistica-10.0 (StatSoft).

В третьем разделе (Результаты и их обсуждение), состоящим из трех подразделов, проанализированы собственные данные, полученные автором и их обсуждение. Изложены все этапы работы и выполнены все поставленные перед исследователем задачи.

В первом подразделе проведено сравнение исследуемых показателей СРО между больными РЖ и группой здоровых добровольцев. Установлено статистически-значимое повышение катаболизма пуринов у больных РЖ по сравнению со здоровыми людьми, что способствует развитию состояния ОС у онкологических больных. Причем динамика изменений ферментативного звена ПОС закономерно растет как в ткани опухоли, так и в плазме крови, что по мнению автора отражает системность опухолевого процесса, а так же свидетельствует о рациональности определения плазменных активностей ферментов, как показателей изменения метаболизма в ткани опухоли.

В работе АОС диссертантом выявлены разнонаправленные изменения ферментативных активностей у больных РЖ, что указывает не только на компенсаторный механизм опухоли в условиях ОС, но и характеризует данный дисбаланс, как специфический механизм патогенеза опухолевого роста.

Во втором подразделе С.А. Зуйков указывает на важность учета геронтологических особенностей при изучении процессов СРО у онкологических больных и здоровых людей, так как диссертантом установлены тесные связи между показателями СРО и возрастом. Причем, для каждой возрастной группы больных РЖ имеются свои специфические особенности влияния одних показателей на другие, на изменение которых, помимо возраста, особое влияние оказывает опухолевый процесс. Автором обнаружено, что при старении происходит повышение прооксидантного статуса плазмы крови и эритроцитов, сочетающегося с нарушением в работе АОС, тесно связанной с изменениями в обмене нуклеотидов. Такая взаимосвязь способствует угнетению антиокислительного потенциала клеток, следовательно, приводит к окислению белков, липидов, снижению транспортной функции крови, повреждению форменных элементов, приводя к развитию тканевой гипоксии, что еще более выражено, проявляется у онкобольных. А значит, можно предполагать, что такие изменения могут служить одним из факторов на этапе развития онкологической патологии.

В третьем подразделе описано изменение компонентов системы СРО под влиянием опухолевой прогрессии. Автором установлено снижение активности ГПО, на фоне увеличения активностей АДА и КО, как на ранних, так и на поздних стадиях РЖ. При этом изменение активности СОД имеет разнонаправленный характер – при ранних стадиях рака происходит снижение активности фермента, а при поздних повышение. Обнаруженные нарушения работы АОС в ткани опухоли, оказывают существенное влияние на жизнеспособность опухолевой клетки и её функциональную полноценность, что более характерно на поздних стадиях заболевания. Полученные данные об увеличении активностей АДА и КО, а также нарушения в работе АОС, позволяют считать, что именно они способствуют процессам опухолевого роста, облегчают опухолевую инвазию и являются наиболее перспективным маркерами метастазирования. Следовательно, данные ферменты играют патогенетическую роль в возникновении и прогрессии опухолевого роста.

В заключении представлен краткий анализ полученных данных и подводятся итоги проведенного исследования. Выводы и практические рекомендации аргументированы и базируются на результатах, представленных в соответствующих разделах диссертации. Материал наглядно документирован таблицами и рисунками и полностью соответствует поставленным целям и задачам, достоверность их не вызывает сомнения.

В целом диссертационную работу Зуйкова С.А. следует оценить положительно. Принципиальных замечаний по диссертации нет, однако необходимо отметить определенные недостатки:

- 1) в работе присутствуют стилистические ошибки (например, стр. 43);
- 2) на стр. 122, на Рис. 4.3.5 отсутствуют критерии достоверности (например, примечание: * - значения показателя достоверны при $p < 0,001$),

хотя в тексте идет описание статистически достоверных изменений полученных результатов;

3) в обзоре литературы последние ссылки за 2016 год;

4) в литературном обзоре автор ссылается на различные изоформы АДА, СОД и ГПО, хотелось бы уточнить какие формы ферментов оценивались в работе?

В то же время указанные замечания не оказывают влияние на положительную оценку диссертационной работы, не влияя на общее, благоприятное впечатление о проделанной работе, не подвергая сомнению адекватность использованных методов и достоверность полученных результатов.

Краткое содержание работы в достаточной степени описано в автореферате, который оформлен по стандартной схеме, отражает основные положения диссертации и соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Заключение

Диссертационная работа С.А. Зуйкова «Значение свободно-радикального окисления в патогенезе рака желудка» подготовлена на достаточном фактическом материале по результатам исследований, проведенных за многолетний период. Анализ и обобщение полученных данных выполнены с использованием общепринятых методов статистики. В диссертации изложены клинико-экспериментальные и теоретические обоснования взаимосвязи между показателями про- и антиоксидантных систем, а также не ферментативными показателями СРО, связанными с опухолевым ростом. Установлено влияние старения на ключевые ферменты системы генерации СР и ферменты АОС в различном биологическом материале. Обнаружены новые патогенетические аспекты изменения активностей ферментов ПОС и АОС, а так же продуктов СРО при опухолевой прогрессии.

Приведенные в диссертации результаты исследований подробно изложены в опубликованных научных трудах: 25 печатных работ, из которых 7 статей - в журналах из перечня ВАК РФ, 3 статьи входят в перечень рецензируемых журналов ВАК Донецкой Народной Республики, 5 работ в зарубежных изданиях и 2 патента на полезную модель.

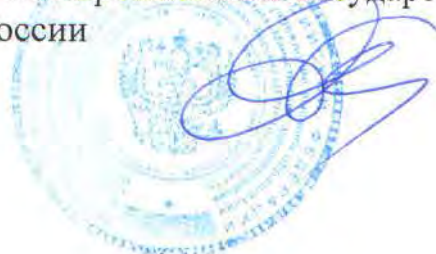
Научные результаты, положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации, достоверны, обоснованны и аргументированы. Практические рекомендации могут в дальнейшем использоваться в научной и клинической практике.

Данная работа имеет важное теоретическое и практическое значение, по своему объему и методическому уровню полностью соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой

степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 –
Патологическая физиология.

Заведующий кафедрой патологической физиологии
Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Ставропольский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор Евгений Вячеславович Щетинин

Подпись руки д.м.н., профессора Щетинина Е.В. заверяю:
Начальник управления правового обеспечения и кадровой политики
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Минздрава России Ольга Николаевна Распопова



355014, г. Ставрополь, ул. Мира, 310, Тел. (8652) 35-23-31; (8652) 35-05-51,
факс (8652) 35-61-85; Адрес официального сайта в сети «Интернет»: <http://www.stgmru.ru>;
Адрес электронной почты E-mail: postmaster@stgmru.ru