

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу
Бакуровой Елены Михайловны на тему
«Активность металлоферментов в клетках крови и тканях карцином
различной локализации», представленную к защите на соискание ученой
степени доктора медицинских наук
по специальности 3.3.3. Патологическая физиология**

Актуальность исследования

Тема диссертационной работы Е. М. Бакуровой актуальна, представляет интерес как для фундаментальной науки, так и практического здравоохранения. Посвящена исследованию патогенетической взаимосвязи между особенностями ферментативных показателей обмена опухоли и формированием её индивидуальных агрессивных свойств. Среди металлоферментов, чья активность была изучена в биоматериале эпителиального рака различных локализаций, либо сам белок-катализатор является мишенью в современной таргетной терапии рака, либо его активность определяет концентрацию в опухоли веществ, обладающих свойствами сигнальных молекул. Например, вовлеченность тимидинфосфорилазы (ТФ) в различные этапы канцерогенеза, её прогностическая значимость сформировали отдельное направление в лечении рака путём применения ингибиторов данного фермента. В то же время, продолжаются исследования биологических эффектов продуктов его реакции, в частности, роли 2-дезоксид-рибозо-1-фосфата в формировании агрессивного фенотипа опухоли. Реализация программ роста, инвазии, ангиогенеза, метастазирования контролируется специализированными белками – факторами роста, транскрипционными факторами, цитокинами. Окислительная модификация белков (ОМБ) активными формами кислорода может способствовать запуску этих программ. Так, роль пероксида водорода в качестве сигнальной молекулы обусловлена его активацией механизмов клеточного ответа, подобных тирозинкиназным. В работе углубленно исследовались особенности активности холоферментов, чьими структурными компонентами являлись металлы переходной группы. Это усиливало их чувствительность к ОМБ, а изменения активности могли непосредственно влиять на программы клеточного роста и трансформации. Также в работе исследовались взаимосвязи нарушений процессов обмена опухоли и клеток крови, участвующих в патогенезе злокачественного роста. В частности, тромбоциты способны секретировать до 578 белков. Так, наиболее известными среди них являются сосудистые факторы (VEGF, PDGF). Интересно, ангиогенные свойства ТФ также связывают с её «тромбоцитарным» происхождением. Аббревиатура PD-ECGF указывает, что ТФ является тромбоцитарным фактором роста эндотелиоцитов. Таким образом, исследование

актуально, так как позволит не только получить новые теоретические данные, но оценить перспективу исследований активности металлоферментов в клетках крови в клинической диагностике в качестве более доступного биоматериала.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и
рекомендаций, сформулированных в диссертации, достоверность
полученных результатов**

Здесь важно отметить, что диссертационное исследование Е. М. Бакуровой является фрагментом нескольких комплексных научно-исследовательских тем, выполнявшихся на кафедрах биологической химии, патологической анатомии, онкологии. Следовательно, соискатель имела возможность сотрудничать с профессорами Василенко И. В., Борзенко Б. Г., чей профессионализм и вклад в науку не вызывает сомнений. Это способствовало реализации комплексного подхода при планировании работы, в получении научных результатов путем использования наряду с биохимическими исследованиями, результатов углубленного морфологического анализа, изучения иммуногистохимическими методами особенностей экспрессии ряда специфических биологических маркеров. Многолетнее сотрудничество с ведущей онкоклиникой Донбасса, позволило проводить исследования в тщательно отбираемом при обязательном морфологическом контроле биоматериале опухолей. Также иметь возможность проведения сравнительных биохимических исследований не только в тканях края резекции органа, но и в уникальном, по сути новом, альтернативном материале, а именно в крови и её форменных элементах, циркулирующей в регионарном кровотоке, непосредственно оттекающей от пораженного опухолевым процессом органа.

Получению достоверных результатов способствовало проведение исследований на обширном фактическом материале, а также сравнительный анализ, выявляемых взаимосвязей метаболизма и морфогенеза в биопрепаратах опухолей нескольких локализаций. В частности, исследования проведены в гомогенатах тканей немелкоклеточного рака легких (63 случая), рака желудка кишечного типа (52 случая), колоректального рака (48 случаев). Использование биохимических методик, изучение особенностей экспрессии специфических молекулярных маркеров соответствовало поставленным задачам и цели работы. Исследования проведены на метрологически поверенном оборудовании. Применение показателей описательной статистики и методов статистического анализа было корректным, проводилось с учетом характера распределения данных. Оценивались лишь статистически значимые показатели. Таким образом, положения, изложенные в диссертации, построены на изученных и проверяемых фактах, которые согласуются с опубликованными данными. В ходе исследования был проанализирован обширный фактический материал, позволяющий обосновать выдвинутые научные положения и выводы. Предложенные автором выводы аргументированы, следуют из результатов

работы. Основные научные положения и выводы решают поставленные задачи, раскрывают цель исследования.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые в эпителиальных опухолях немелкоклеточного рака легких, аденокарциномах желудка и кишечника среди биопрепаратов одной локализации и одного патоморфологического типа выявлена их метаболическая неоднородность. На фоне нарастания фосфорилазной активности тимидинфосфорилазы (ТФ) и супероксиддисмутазы (СОД), которые формировали 2-дезоксид-Д-Рибозо-1-фосфат и пероксид водорода, оставалась низкой активность глутатионпероксидазы (ГПО). При этом в эпителиальных опухолях обнаружено повышение содержания железа. Поскольку при этом была выявлена отрицательная обратная связь между повышением уровней этого металла в опухоли и его снижением в эритроцитах крови, оттекающей от пораженного органа, вероятным источником железа в опухоли, по мнению автора, может быть гемоглобин эритроцитов.

Предложено считать выраженное снижение ГПО и аденозиндезаминазы (АДА) эритроцитов показателями декомпенсации обменных процессов, сопряженными с низкой жизнеспособностью эритроцитов и высоким риском развития анемии.

Установленное повышение уровней железа в опухоли ведет к неферментативной трансформации H_2O_2 в наиболее токсичный для окружающих тканей гидроксильный радикал. На основании исследования индивидуальных особенностей опухолевой экспрессии маркеров клеточной адгезии и ангиогенеза, пролиферативного показателя, эпителиальных цитокератинов и мезенхимальных маркеров было установлено, что выявленные особенности обмена ассоциированы с реализацией опухолью эпителиально-мезенхимального перехода, характеризующегося усиленным ангиогенезом, устойчивостью к апоптозу, инвазивными свойствами и высоким метастатическим потенциалом, то есть агрессивным характером роста.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов

Выявленные индивидуальные метаболические особенности могут непосредственно способствовать активации сигнальных путей, обеспечивающих формирование агрессивных свойств опухоли. На основании собственных результатов и имеющихся литературных данных автором была разработана частная схема патогенеза эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). Это позволило значительно расширить концепцию злокачественного роста. На клиническом материале немелкоклеточного рака легких, карцином

желудка и кишечника показана возможность метаболического стимулирования ЭМП.

Полученные результаты внедрены в учебный процесс кафедр биологической химии, патологической анатомии и патологической физиологии.

Практическое значение имеет усовершенствованный и запатентованный способ ранней диагностики опухолевого процесса путем параллельного определения двух видов активности ТФ. Перспективным материалом для клинических исследований видится обогащенная тромбоцитами плазма оттекающей крови, получаемая во время оперативных вмешательств.

Исследование особенностей активности эритроцитарных ферментов АДА и ГПО может быть использовано в качестве показателя низкой жизнеспособности красных клеток крови и риска развития анемии у онкологических больных.

Отдельные теоретические положения и практические рекомендации, разработанные на этапах выполнения диссертации в достаточной степени отражены в научных публикациях. Причем из 39 статей 23 были опубликованы в научных изданиях, рекомендованных ВАК МОН ДНР и ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ.

Общая характеристика работы, оценка полноты представления результатов в научных публикациях

Рукопись изложена на 293 страницах компьютерного текста, проиллюстрирована 42 таблицами, 39 рисунками. Работа состоит из «Введения», восьми глав («Обзора литературы», «Материалов и методов исследования», 5 разделов собственных исследований, «Анализа и обсуждение результатов исследования»), «Выводов», «Практических рекомендаций», «Списка литературы». Список содержит 343 источника, 2/3 которого представлены публикациями зарубежных авторов.

Во «Введении» диссертант обосновывает актуальность темы исследования, определены цель и задачи, описывает теоретическую и практическую значимость работы, формулирует новизну, личный вклад диссертанта

«Обзор литературы» написан хорошим литературным языком, указывает на умение автора обобщать и анализировать данные, формировать своё мнение по обсуждаемым вопросам. В кратком резюме в завершении раздела формулирует известные тенденции, аргументирует возможность дальнейшего исследования.

Следующий раздел «Материалы и методы исследований» содержит данные о современных методах исследований, проведенных в рамках работы. Указаны особенности подготовительных этапов подготовки материала. В нём подробно изложены методики по определению активности изучавшихся

ферментов, морфологических методах исследований. При проведении статистического анализа автор использовала современные и специализированные для медико-биологических исследований пакеты программ MedStat и «Statistica 10.0».

Результаты собственных исследований изложены в следующих пяти разделах. Изложение полученных результатов сопровождается достаточно информативными табличными данными, среди иллюстративного материала следует отметить ряд микрофотографий, формирующих наглядно представление об особенностях морфогенеза при эпителиально-мезенхимальном переходе. Особенно хотелось отметить, имеющееся уравнение расчета материального баланса, приведенное в седьмом разделе, посвященном описанию результатов определения содержания в материале металлов переменной валентности. Предпринятый способ указывает на состоятельность гипотезы автора о том, что дополнительным источником железа в тканях опухолей, действительно, могли быть эритроциты регионарного кровотока. Также предположение подкрепляется установленными корреляциями между повышением содержания железа в опухоли и снижением его содержания в эритроцитах крови, оттекающей от пораженного органа.

В разделе *«Анализ и обсуждение результатов исследования»* дано детальное обсуждение полученных результатов, сопоставление с известными данными других исследователей. Дано описание разработанной частной схемы патогенеза ЭМП, реализуемого при участии изучавшихся металлоферментов.

Выводы диссертационного исследования обоснованы, позволяют решить сформулированные задачи, логично вытекают из описанных в работе результатов.

Идентичность содержания автореферата и основных положений диссертации

Автореферат и диссертация оформлены соответственно основным требованиям ВАК МОН ДНР. Содержание автореферата идентично основному тексту диссертационной работы.

Замечания по диссертационной работе и вопросы

Замечания принципиального характера отсутствуют. Однако имеются вопросы, на которые хотелось бы получить ответы при дискуссии:

1. Как Вы лично трактуете, полученные Вами данные о дисбалансе активности ферментов антиоксидантной системы в нетрансформированных тканях, использовавшихся в качестве группы сравнения для опухолей, входивших во вторые кластеры?

2. Прокомментируйте, в чем именно заключается перспективность исследования особенностей активности тимидинфосфорилазы при персонализации адьювантной химиотерапии препаратами группы 5-фторурацила.

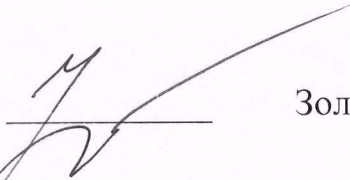
Заключение

Диссертация Бакуровой Елены Михайловны на тему «Активность металлоферментов в клетках крови и тканях карцином различной локализации» является завершённым научным исследованием по актуальной медицинской проблеме, соответствует шифру специальности 3.3.3. Патологическая физиология.

Диссертационная работа по тематике, новизне, логичности, завершённости, значимости теоретических и практических результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора медицинских наук в соответствии с пунктом 2.1 Положения о присуждении учёных степеней, утвержденного постановлением Совета Министров ДНР от 27.05.2015 № 2-13 (в редакции от 10.08.2018 № 10-45). Автор диссертации заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 3.3.3. Патологическая физиология

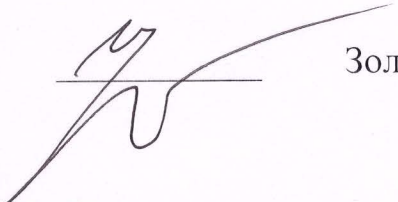
Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук
(14.03.03 – патологическая физиология),
профессор, заведующий отделом
координации научных исследований
и прогнозирования Республиканского
травматологического центра
МЗ ДНР


Золотухин С. Е.

Республиканский травматологический центр Министерства здравоохранения
Донецкой Народной Республики, , 283048, ДНР, г. Донецк, ул. Артема, 106,
тел. + 38 (062) 311-05-08, e-mail rtcdon@mail.ru,

Даю согласие на автоматизированную обработку персональных данных

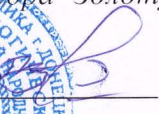

Золотухин С. Е.

« 10 » марта 2023 г.

Подпись доктора медицинских наук, профессора Золотухина Сергея Евгеньевича
«заверяю»:

начальник отдела кадров
Республиканского
травматологического центра
МЗ ДНР




Водолазская Н. А.

Отзвб оф. оппонента поступил в
АС 03.2.001.04 / Д 01.022.05 / 14 апреля 2012 г.
Врио главного секретаря АС 03.2.001.
Д 01.022.051



г.м.и. прочит
Антронова О.С.