

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель начальника

Военно-медицинской академии

по научной работе

доктор медицинских наук доцент

Е.В. Ивченко



20 23г.

рег. №

16/38

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Дмитрия Владимировича Зимы на тему: «Стресс и нарушение сигнального пути регуляции апоптоза в развитии патологии щитовидной железы (клинико-экспериментальное исследование)», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.3.Патологическая физиология, 3.1.9. Хирургия.

Актуальность диссертационного исследования

Заболевания щитовидной железы занимают лидирующее место среди всех болезней эндокринной системы, при этом чаще всего данная патология имеет аутоиммунный характер. Диссертационная работа Д.В. Зимы посвящена проблеме выявления патогенетических механизмов развития хирургических заболеваний щитовидной железы, поиску молекулярно-генетических маркеров и совершенствованию диагностического подхода на предоперационном этапе. Согласно мировым статистическим данным, продолжается прирост заболеваемости злокачественными новообразованиями щитовидной железы, прежде всего – папиллярным раком. Современная лабораторная диагностика заболеваний щитовидной железы совершенствуется с учетом молекулярно-

генетических методов исследования, что нашло свое отражение в расширении объема обследования больных при выборе тактики лечения. В частности, в рутинную практику вошла идентификация мутации V600E гена BRAF, представляющей собой замену аминокислот с валина на глутаминовую кислоту в 600 кодоне, что позволяет оценить агрессивность опухолевого процесса и при необходимости подобрать адекватную таргетную терапию BRAF- и MEK-ингибиторами. Следует отметить, что профиль экспрессии генов неизмененных и трансформированных клеток щитовидной железы в отличие от новообразований других органов характеризуется определенной тканеспецифичностью, а также имеет прогностическое значение.

Таким образом, изучение фактор-зависимых нарушений внутриклеточных сигнальных путей в формировании патологии щитовидной железы с целью усовершенствования лечебно-диагностических алгоритмов на предоперационном этапе, имеет определенный научный и практический интерес и обосновывает выбор данной темы в качестве диссертационного исследования.

Научная новизна исследования

Новизна диссертационного исследования Д.В. Зимы заключается в установлении изменений ткани щитовидной железы в условиях стресса различной продолжительности. Экспериментальным путем выявлены закономерные изменения клеточного и гормонального гомеостаза, структуры фолликулярного эпителия и особенности динамики факторов, определяющих клеточный цикл или готовность тироцита к апоптозу. Дополнены имеющиеся в научной литературе данные об уровнях экспрессии Fas-рецептора, антиапоптотического маркера bcl-2, маркера пролиферации Ki-67 и маркера апоптоза p53 в тироцитах у больных различными заболеваниями щитовидной железы: папиллярным раком, аутоиммунным тиреоидитом, узловыми токсическим зобом. На основании полученных данных проведен кластерный анализ с выявлением групп повышенного риска злокачественной

трансформации ткани щитовидной железы. Установлена патогенетическая роль стресса и нарушения сигнального пути регуляции апоптоза в механизмах развития заболеваний щитовидной железы на основании молекулярных изменений в эксперименте и клинической практике.

Диссертантом установлено, что при воздействии на организм комбинированного стресса возникают закономерные изменения в экспрессии Fas-рецептора на мембране тироцита и предложен иммуноцитохимический индекс расчета изменения кинетики клеток щитовидной железы.

Разработаны рекомендации по диагностике рака щитовидной железы на основании малоинвазивной методики тонкоигольной аспирационной пункционной биопсии с проведением комплекса молекулярно-генетических исследований полученного аспирата и на клеточном блоке. Предложен алгоритм динамического наблюдения больных с новообразованиями щитовидной железы неопределенного или неизвестного характера.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертации, основаны на достаточном количестве экспериментальных и клинических исследований, ретроспективный анализ за 3,5 года позволяет проследить динамику заболеваемости патологией щитовидной железы.

Клинико-экспериментальный характер работы позволил оценить множество современных методик и всесторонне изучить проблему диагностики и патогенетических механизмов развития хирургической патологии щитовидной железы. В экспериментальной части использованы следующие методы исследования: моделирование стресса у белых крыс; определение показателей формулы крови, кардиореспираторной регуляции, уровня гормонов; гистологические и иммуногистохимические методики (определение экспрессии маркеров Fas-R, Ki-67). С целью обследования

пациентов применялись общепринятые клинические и лабораторно-инструментальные методы (сбор анамнеза, осмотр, ультразвуковое исследование щитовидной железы с тонкоигольной аспирационной пункционной биопсией), морфологические – для верификации диагноза (цитологическая оценка аспирата и гистологическое исследование операционного материала), иммуногистохимическая оценка экспрессии маркеров клеточного цикла: Fas-R, bcl-2, p53, Ki-67, определение мутации V600E гена BRAF методом полимеразной цепной реакции, а также ретроспективный анализ результатов диагностики на предоперационном и послеоперационном этапах за 3,5 года. Применение современных диагностических технологий, включающих методы световой микроскопии, сканирования гистопрепаратов, морфометрии, а также правильная статистическая обработка полученных данных позволили автору решить все поставленные задачи, достичь цели исследования и обосновать положения, выносимые на защиту. Выводы согласуются с полученными результатами и соответствуют их сути. Практические рекомендации свидетельствуют об актуальности, востребованности перспективах диссертационного исследования.

Значимость полученных результатов для науки и практики

В диссертационной работе Д.В. Зимы предложена патогенетическая теория развития заболеваний щитовидной железы с точки зрения изменения экспрессии маркеров клеточного цикла, характеризующих определенные изменения в тироцитах, предшествующих их злокачественной трансформации. На основании комплексного исследования патофизиологических механизмов установлена роль стресса в развитии данной патологии. Полученные в диссертационном исследовании результаты о повышенной заболеваемости женщин по сравнению с мужчинами могут свидетельствовать о гендер-специфическом аутоиммунитете.

Оптимизирован алгоритм диагностики и выбора лечебной тактики у больных заболеваниями щитовидной железы с учетом применения молекулярно-генетических технологий. Полученные результаты внедрены в клиническую практику и могут служить основой для дальнейшего изучения и совершенствования методов диагностики с целью улучшения результатов лечения больных данной патологией.

Оформление и содержание работы.

Диссертация Д.В. Зимы изложена в классическом стиле на 171 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, четырех глав с результатами собственных исследований, пятой главы – анализа и обобщения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, содержащего 174 работы. Работа иллюстрирована 19 таблицами, 9 диаграммами, 3 блок-схемами, 68 рисунками (из них 2 иллюстрациями-схемами и 66 микрофотографиями).

Во введении приведены актуальность и степень разработанности проблемы, современные литературные данные, четко сформулированы цель и задачи исследования, указана научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы. Приведено подробное описание лабораторий, где проводилось исследование, этапы апробации и внедрения результатов в клиническую практику. Указано участие автора в качестве исполнителя Государственного задания FZEG-2020-0060 по теме работы: «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий».

В первой главе представлен обзор литературных данных с использованием достаточного количества отечественных и зарубежных источников. Обзор написан грамотно, с анализом нерешенных проблем, что позволило диссертанту обосновать оптимальную стратегию исследования, необходимую для решения поставленных задач.

Методический раздел написан достаточно подробно и включает дизайн исследования, схемы экспериментальной части работы, а также содержательную характеристику методов и критериев, определяющих особенности показателей структуры и функции щитовидной железы и их изменений.

В третьей главе представлены результаты подробного анализа динамики функциональных показателей сердечно-сосудистой и дыхательной систем крыс, а также их гематологических показателей в условиях стресса. Полученные данные позволили подтвердить стадии реакции адаптации, тренировки и стресс-реакции, возникшие у крыс в ходе эксперимента, и провести сравнительную оценку их динамики в зависимости от пола животного, вида и длительности стрессового воздействия.

В четвертой главе указаны структурно-функциональные изменения щитовидной железы при моделировании стресса. Здесь же приведены данные определения уровня гормонов методом иммуноферментного анализа, а также иммуногистохимические изменения в тироцитах – снижение уровня экспрессии индекса пролиферации напротив, повышение экспрессии маркера апоптоза.

В пятой главе отображено влияние антиапоптотического маркера bcl-2 и антител к белку p53 на изменения в ткани щитовидной железы. Проведен математический анализ, позволивший выявить закономерность соотношения рассчитанных показателей для определения индекса злокачественности по оригинальной формуле. Раздел иллюстрирован микрофотографиями с указанием структурных элементов клетки для интерпретации ее молекулярно-биологических изменений.

В шестой главе в виде блок-схемы представлен новый диагностический алгоритм с учетом применения методик иммуногистохимического и молекулярно-генетического анализа с определением индекса злокачественности образований щитовидной железы и оценкой наличия в них мутации V600E гена BRAF.

В заключении автор сопоставляет полученные результаты с данными литературы, подводит итоги диссертационного исследования и обосновывает выводы.

Выводы и практические рекомендации являются конкретными и обоснованными, большинство из них подкреплены числовыми данными и закономерно отражают содержание работы.

Связь темы исследования с планами научных учреждений и соответствующих отраслей науки

Тема диссертационного исследования Зимы Д.В. входит в план научных исследований ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Экспериментальный раздел работы выполнен при поддержке программы развития Крымского федерального университета. Клинический раздел работы получил поддержку из государственного задания FZEG-2020-0060 «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий», № государственной регистрации АААА-А20-120122490026-1, где автор является исполнителем.

Внедрение результатов исследования в практику

Отдельные положения, вошедшие в диссертационное исследование, внедрены в образовательные программы и используются в учебном процессе студентов, ординаторов, аспирантов кафедры общей и клинической патофизиологии, патологической анатомии, хирургии № 2 Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Результаты клинической части исследования используются в работе Клинического медицинского многопрофильного центра Святителя Луки ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», ООО «Клиника Генезис» и Центральной научно-исследовательской лаборатории

Института «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского».

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ, отражающих основные результаты, научные положения и выводы. Из них: 2 статьи в журналах, индексируемых в международных наукометрических базах Web of Science, Scopus; 6 статей в специализированных рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Российской Федерации, 9 публикаций в сборниках материалов тематических научных конференций, 1 патент на изобретение РФ.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат оформлен в соответствии с основными требованиями ВАК РФ и отражает основные результаты, полученные в проведенном исследовании. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Замечания и вопросы

Работа выполнена на хорошем теоретическом и методическом уровне. Принципиальных недостатков и замечаний, снижающих общую положительную оценку работы, нет. Отдельные орфографические и стилистические погрешности в тексте диссертации и автореферате не носят принципиальный характер и не снижают общей положительной оценки выполненной работы. Диссертация оформлена в соответствии с требованиями п.9 «Положения» ВАК и написана грамотным научным языком. Однако к автору появились и требуют уточнения следующие вопросы:

1. В Вашем исследовании доказано влияние маркеров bcl-2 и p53 на развитие патологии щитовидной железы. Почему в таком случае указанные маркеры не нашли своего применения в диагностическом алгоритме?

2. Выявление у больных BRAF-отрицательных фолликулярных неоплазий (Bethesda IV), согласно предложенному диагностическому алгоритму, указывает на необходимость динамического наблюдения. Какие отдаленные результаты получены Вами при наблюдении за неоперированными пациентами?

3. Каковы все-таки показатели информативности исследуемых молекулярно-генетических методик и комплексного диагностического алгоритма больных заболеваниями щитовидной железы? Позволило ли его применение снизить количество необоснованных хирургических вмешательств?

4. Рассматривался ли вопрос о выполнении профилактической центральной лимфаденэктомии у больных с высоким риском злокачественного роста опухоли по результатам расчёта индекса Z и выявления мутации V600E гена BRAF?

Заключение

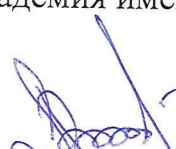
Диссертационная работа Зимы Дмитрия Владимировича на тему «Стресс и нарушение сигнального пути регуляции апоптоза в развитии патологии щитовидной железы (клинико-экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.3.3. Патологическая физиология, 3.1.9. Хирургия, является самостоятельно выполненной, завершённой научно-квалифицированной работой, в которой содержится решение актуальной научно-практической задачи – определение роли стресса и нарушения сигнального пути регуляции апоптоза в развитии патологии щитовидной железы.

По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842,


предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата (доктора) наук, а её автор достоин присуждения искомой степени по специальностям: 3.3.3. Патологическая физиология, 3.1.9. Хирургия.

Отзыв обсуждён и одобрен на заседании научно-исследовательского отдела (медико-биологических исследований) НИЦ и кафедры факультетской хирургии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» МО РФ, протокол заседания № 3 от 26.01 2023 года.

Начальник научно-исследовательского отдела
(медико-биологических исследований) НИЦ
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ
доктор медицинских наук

 Глушаков Руслан Иванович

Преподаватель кафедры факультетской хирургии
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ
кандидат медицинских наук

 Криволапов Денис Сергеевич

«26» 01 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации
194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6, тел. 8(9812)329-71-36
Электронная почта vn-t@mail.ru; официальный сайт: <https://www.vmeda.org>