

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертационной работе Дорошук Натальи Александровны на тему «Влияние окислительного стресса на длину теломеров в лейкоцитах крови при различном риске развития заболеваний сердечно-сосудистой системы и экстремальных состояниях», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 –Биохимия.

Актуальность работы

Диссертационная работа Дорошук Н.А. посвящена исследованию весьма важной проблемы современной биохимии – влиянию окислительного стресса на деструкцию теломерной ДНК. Действительно на сегодняшний день факторы, влияющие на длину теломеров являются предметом пристального внимания многих групп учёных. Актуальность данной работы обусловлена тем, что окислительный стресс участвует в развитии целого ряда тяжелых заболеваний, в том числе атеросклероза, ишемической болезни сердца (ИБС), инфаркта миокарда, сердечной недостаточности и артериальной гипертензии. Более того, уменьшение длины теломеров в условиях окислительного стресса может существенно влиять на качество и продолжительность жизни человека. Тем не менее, роль процессов свободнорадикального окисления в изменении длины теломеров хромосом в настоящее время практически не изучена. В связи с большой значимостью данных процессов для сердечно-сосудистой системы актуальность и научно-практическая значимость диссертационного исследования представляется несомненным.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Значительный объем проведенных исследований, применение современных и во многом уникальных для нашей страны методов, детальный и корректный анализ полученных экспериментальных результатов и их тщательная статистическая обработка позволяют говорить о высокой степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Задачи проведенного исследования полностью согласуются с его целью. Экспериментальный материал, полученный диссертантом, обобщен в трех

положениях, выносимых на защиту и пяти выводах. Выводы сформулированы на основе обобщения результатов проведенных исследований и анализа литературных данных и согласуются с задачами и целью диссертационной работы.

Результаты диссертационного исследования Дорошук Н.А. полностью отражены в 4 печатных работах в изданиях, рекомендованных ВАК Минобразования РФ для публикаций материалов диссертационных работ и доложены на 4-х научных конференциях. Автореферат достаточно полно отражает все основные положения диссертации.

Степень научной новизны и достоверность результатов исследования

Результаты, полученные в диссертационной работе Дорошук Н.А., как и следующие из них выводы и практические рекомендации обладают необходимой степенью достоверности и научной новизны. Применение биохимических и молекулярно-биологических методов, в том числе ПЦР в реальном времени для определения длины теломеров в лейкоцитах крови и иммунохимического метода для оценки уровня окисленных липопротеидов низкой плотности в плазме позволило установить связь между выраженностью окислительного стресса и уменьшением длины теломерных повторов хромосом в лейкоцитах крови. Автору удалось выявить критические значения длины теломеров при которых возрастает риск развития сердечно-сосудистых осложнений у больных ИБС.

Особый интерес представляет климатическое исследование. Несмотря на небольшое количество испытуемых, что обусловлено устройством медико-технического комплекса (МТК), в наличие которого было только 6 кают, установлено что при моделировании волн летней жары происходит развитие окислительного стресса и последующее уменьшение длины теломерных повторов в хромосомах лейкоцитов крови у добровольцев, что может объяснить рост осложнений сердечно-сосудистых заболеваний во время экстремальной жары.

В то же время, основная часть исследований выполнена на большой выборке пациентов, а группы риска грамотно сформированы по шкале SCORE. Полученные результаты подвергнуты статистической обработке, проведена проверка нормальности распределения данных для основной выборки. Результаты

климатического исследования оценивали с использованием непараметрических критериев.

Характеристика содержания работы

Диссертация написана традиционно, материал изложен на 102 страницах машинописного текста и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы», включающий 142 источника. Работа проиллюстрирована 31 рисунком и 10 таблицами. Хочется отметить, высокий уровень представленного в диссертации иллюстративного материала.

Во введении раскрывается актуальность проблемы, обосновывается цель и задачи, необходимые для достижения поставленной цели; показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов, а также их достоверность, методология исследования, положения, выносимые на защиту, указано количество публикаций, объем и структура диссертации.

Первая глава (Обзор литературы) содержит достаточно глубокий анализ современного состояния исследований теломеров, в том числе их строения и функционирования, а также молекулярных механизмов регуляции длины теломерных повторов хромосом. Особенно подробно автор диссертации останавливается на роли окислительного стресса в уменьшении длины теломеров. Необходимо отметить, что логика литературного обзора подводит читателя к целесообразности проведения данного диссертационного исследования.

В главе «Материалы и методы» весьма подробно описаны используемые в диссертации методические подходы и экспериментальные системы, что позволяет при необходимости воспроизвести данные методики в других лабораториях. Несомненным достоинством работы является то, что автором разработана и внедрена для клинического использования оригинальная модификация метода измерения длины теломерных повторов хромосом.

Глава «Результаты и обсуждение» содержит результаты собственных исследований Дорошук Н.А. и их обсуждение. Обнаружено, что уменьшение длины теломеров лейкоцитов коррелирует с ростом уровня окисленных липопротеидов низкой плотности в крови лиц с различным риском сердечно-сосудистой смерти (по шкале SCORE) и с клиническими проявлениями ИБС.

Вместе с тем, у пациентов с высоким риском сердечно-сосудистой смерти или с клиническими проявлениями ИБС длина теломерных повторов была достоверно ниже, чем у практически здоровых людей того же возраста. Как уже отмечалось выше аномально высокая температура вызывала у практических здоровых добровольцев те же эффекты, что и при развитии сердечно-сосудистых патологий. Так, содержание малонового диальдегида (вторичного продукта перекисного окисления липидов) в плазме крови увеличивался приблизительно на 60%, а длина теломер лейкоцитов снижалась на 17%. Кроме того, диссертантом установлено, что при уменьшении длины теломерных повторов хромосом лейкоцитов более чем на 40% от нормы для соответствующего возраста существенно растет риск тяжелых осложнений сердечно-сосудистых заболеваний. Выявление этого критического порога является приоритетным результатом, важным как с фундаментальной, так и с практической точки зрения.

В заключении диссертант коротко анализирует результаты проведенного исследования, грамотно их интерпретируя на основе литературных данных. В частности, автор считает, что усиление окислительной деструкция теломерной ДНК при аномальных климатических условиях, приводит к повышению риска сердечно-сосудистых заболеваний и преждевременному старению.

Замечания по диссертационной работе

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Дорошук Н.А. нет. Тем не менее во время прочтения диссертации у меня возникли некоторые вопросы и пожелания:

1. В литературном обзоре автор диссертации описывает деструкцию ДНК и укорочение теломер под действием активных форм кислорода, но не касается роли активных форм азота в этих процессах.
2. Хотелось бы также узнать каким образом возникающая при аномальных климатических условиях гипоксия связана с окислительным стрессом.
3. В тексте диссертации есть ошибки и опечатки, например, на странице 53 имеется не имеющий смысла фрагмент из латинских букв, выделенных красным цветом. Кроме того, нарушена нумерация рисунков (с 19 по 24).

Несмотря на незначительные недостатки, диссертационная работа заслуживает самой высокой оценки.

Заключение

Диссертация Дорошук Натальи Александровны на тему «Влияние окислительного стресса на длину теломеров в лейкоцитах крови при различном риске развития заболеваний сердечно-сосудистой системы и экстремальных состояниях» является законченной научно-квалификационной работой и содержит решение фундаментальной научной задачи по проблеме влияния окислительного стресса на деструкцию теломерной ДНК. Диссертационная работа соответствует всем критериям, установленным п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. постановления Правительства РФ от 02.08.2016 г. №748), а сам диссертант, вне всякого сомнения, заслуживает присвоения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.01.04 –Биохимия.

Старший научный сотрудник лаборатории
биохимии азотфиксации и метаболизма азота
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии»
Российской академии наук»
(специальность 03.01.04- биохимия)
Шумаев Константин Борисович

 /К.Б. Шумаев/

Контактная информация:

Адрес: 119071 Российская Федерация, г. Москва,

Ленинский проспект, дом 33, строение 2

Телефон: +7 (495) 954-52-83

E-mail: info@fbras.ru

ФИЦ Биотехнологии РАН: <http://fbras.ru>

Подпись д.м.н., Шумаева К.Б. заверяю:

Ученый секретарь ФИЦ Биотехнологии РАН

кандидат биологических наук

27.12.2017



AM

А.Ф. Орловский