

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук доцента Кравчука Юрия Алексеевича на диссертационную работу Сяляновой Екатерины Петровны «Клинико-лабораторное значение зонулина при заболеваниях толстой кишки» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

### **Актуальность темы диссертационной работы**

В последнее время в литературе значительное внимание уделяется повышенной кишечной проницаемости, которая представляется исследователям, как общий механизм, лежащий в основе патогенеза аллергических, воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Принцип, лежащий в основе теории «дырявого кишечника», заключается в том, что эндогенные и экзогенные факторы могут повышать проницаемость кишечника.

На основании исследований последних двух десятилетий возрос интерес ученых к не иммунному компоненту этого процесса, в том числе, к белкам, влияющим на работу межклеточных плотных контактов (tight junctions – TJ). Одним из таких белков является зонулин, а именно прегаптоглобин 2 (preHP2), человеческий гомолог второго энтеротоксина, продуцируемого *Vibrio cholerae*, токсина Zot (zonula occludens toxin). Кишечный барьер играет чрезвычайно важную роль в поддержании иммунного гомеостаза кишечника и всего организма. Нарушение герметичности этого барьера сопровождается разного рода дисфункциями пищеварительного тракта, системными инфекциями, пищевой непереносимостью и аутоиммунными заболеваниями. Зонулин, как известно, обратимо регулирует парацеллюлярный путь с последующей разборкой TJ и повышением проницаемости кишечной стенки. Недавние исследования продемонстрировали, что уровень сывороточного зонулина повышается при синдроме раздраженного кишечника и воспалительных заболеваниях кишечника. Таким образом, зонулин стал первым и пока единственным известным белком млекопитающих, модулирующим функциональную активность TJ, в основном за счет их ослабления, приводящего к увеличению проницаемости кишечной стенки.

Высказана гипотеза о том, что дисрегуляция сигнального пути зонулина, может вносить вклад в механизмы злокачественной трансформации и метастазирования. Опубликованы единичные исследования о роли зонулина при онкологических заболеваниях.

Зонулин, как предиктор повышенной кишечной проницаемости, играет важную роль в патогенезе многих воспалительных и аутоиммунных заболеваний, не только кишечника, но и ряда других органов и тканей. В этой связи в последнее время зонулин рассматривают и активно изучают в качестве маркера кишечной проницаемости при различных патологиях. Определение зонулина в сыворотке крови и других биологических средах является полезным инструментом для диагностики, мониторинга, а возможно, и коррекции патологических процессов, связанных с нарушениями кишечной проницаемости. Стало быть, поиск новых путей достоверной лабораторной диагностики различных воспалительных и опухолевых патологий слизистой толстой кишки остается актуальной проблемой.

### **Степень обоснованности научных положений, выводов, рекомендаций**

Достоверность результатов достигнута за счет включения в работу достаточного количества обследованных пациентов. Автором обработаны клинические данные и биологические образцы крови 260 больных с патологиями кишечника, которые составили четыре группы: 1 группа - 156 больных злокачественными опухолями толстой кишки; 2 группа - 29 больной доброкачественными опухолями толстой кишки; 3 группа – 53 больных с функциональными нарушениями кишечника (13 больных с функциональными расстройствами кишечника и 40 больных с синдромом раздраженного кишечника); 4 группа – 22 больных с воспалительными заболеваниями кишечника (пациенты с болезнью Крона и язвенным колитом). Группу контроля составили 50 практически здоровых доноров соответствующего пола и возраста.

Диссертационное исследование базировалось на современных лабораторных методиках, которые полностью соответствуют поставленным цели и задачам. Работа выполнена в соответствии с общепринятыми этическими и научными принципами.

Обоснованность выводов подтверждается применением современных методов статистической обработки данных. Научные положения, вынесенные на защиту, базируются на существующих данных и подтверждены полученными результатами. Сделанные выводы логично вытекают из результатов и соответствуют содержанию работы.

Высокая степень статистической значимости и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений. Выводы и практические рекомендации логичны. Актуальны, обоснованы достаточным фактическим материалом,

вытекают из полученных данных работы и полностью отражают ее содержание.

### **Научная новизна исследования и достоверность результатов**

Впервые в России на большом клиническом материале проведен комплексный сравнительный анализ концентрации зонулина в сыворотке крови здоровых доноров группы контроля, больных воспалительными заболеваниями и функциональными нарушениями кишечника, опухолевыми заболеваниями толстой кишки. При этом показано, что содержание маркера в сыворотке крови практически здоровых доноров группы контроля не связано с их возрастом, однако статистически значимо выше у здоровых мужчин по сравнению с женщинами.

Диссертант Е.П. Саянова доказала, что у больных с синдром раздраженного кишечника по смешанному типу средний уровень зонулина статистически значимо выше, чем в контроле и у пациентов с функциональными нарушениями кишечника. При этом сывороточные уровни зонулина различались между тремя подгруппами больных с синдромом раздраженного кишечника: по смешанному типу, с диареей и склонностью к запорам. Кроме того, выявлено, что при болезни Крона концентрации зонулина в сыворотке крови не связаны с полом и возрастом пациентов, не отличались от больных язвенным колитом, но статистически значимо были выше, чем у здоровых доноров.

Вместе с тем, не найдено различий в уровне сывороточного зонулина между группой здоровых доноров и больных с функциональными нарушениями кишечника кроме пациентов с синдромом раздраженного кишечника.

Бактериологическое исследование показало, что уровни зонулина в сыворотке крови не различались в зависимости от обнаружения у пациентов всех групп патогенной и условно-патогенной флоры. Не было обнаружено ассоциации между концентрациями сывороточного зонулина и наличием инфекции *Helicobacter pylori*, а также сопутствующей желудочно-кишечной патологии, что позволяет утверждать о связи маркера с воспалительным процессом в кишечнике.

Автором убедительно доказано, что у больных колоректальным раком содержание зонулина в сыворотке крови не связано с возрастом и полом, высоко значимо выше, чем в контроле и при функциональных расстройствах кишечника. Следует подчеркнуть, что уровень маркера сопоставим с таковым у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и при доброкачественных опухолях толстой кишки. Выявлено снижение

показателей общей выживаемости больных колоректальным раком при концентрации зонулина в сыворотке крови  $\geq 54,0$  нг/мл.

Диссертационная работа основана на изучении и анализе общеклинических, биохимических, иммунологических, морфологических и инструментальных данных исследований. Выполнялся современный статистический анализ значимых клинико-морфологических характеристик в обозначенных когортах больных. Результаты исследования обработаны с применением достоверных статистических методов, что позволило провести полноценный объективный анализ полученных данных.

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается достаточным объемом полученных клинико-лабораторных и экспериментальных исследований, их статистическим анализом; обеспечивается достаточным объемом клинико-лабораторных исследований с применением современных средств обработки полученных данных и оборудования, а также внедрением результатов работы на реальном объекте.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Научно – практическая значимость исследования состоит в том, что на большом клиническом материале (260 больных) дана полноценная оценка роли сывороточного биологического маркера – зонулина, как ключевого маркера в регуляции проницаемости кишечного барьера.

Автор доказал, что повышенные сывороточные концентрации зонулина сопровождают развитие и клиническое течение воспалительных заболеваний и опухолевых процессов в толстой кишке, поэтому могут служить дополнительным биологическим маркером этих патологий.

Кроме того, исследователь высказал предположение о том, что повышенные концентрации зонулина в сыворотке крови больных с воспалительными и опухолевыми процессами в толстой кишке свидетельствуют о том, что эти белки могут рассматриваться как мишени патогенетической терапии с целью возможного включения в схемы лечения этих пациентов лекарственных препаратов.

Между тем, одним из наиболее важных разделов проведенного исследования Саляновой Е.П. является анализ роли зонулина у больных доброкачественными и злокачественными опухолями толстой кишки. Автор работы скрупулезно анализирует связь сывороточных уровней зонулина с основными клинико-морфологическими характеристиками рака толстой кишки: стадией опухолевого процесса, степенью дифференцировки опухоли, наличием регионарных и отдаленных метастазов.

Полученные лабораторные данные имеют непосредственное практическое значение, так как позволяют оптимизировать диагностический и лечебный процесс при воспалительных, аутоиммунных и опухолевых поражениях толстой кишки с учетом их клинико – лабораторных характеристик.

Считаю целесообразным включить в программы повышения квалификации специалистов клинической лабораторной диагностики цикл лекций, посвященных прогностической роли указанных лабораторных маркеров, в рамках ознакомления слушателей с возможностями иммуноферментного анализа для оценки отдаленных результатов лечения пациентов с онкологическими заболеваниями.

### **Оценка содержания диссертационной работы**

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», главы собственных результатов исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы и указателя цитируемой литературы.

Общий объем диссертации составляет 134 листа машинописного текста. Указатель литературы содержит 255 работ, из них 8 отечественных и 247 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 15 таблицами и 31 рисунком.

Во введении автор обосновывает актуальность проблемы, четко излагает цель исследования и задачи, поставленные для ее достижения, формулирует основные положения диссертации, выносимые на защиту. Цель и задачи сформулированы достаточно конкретно и отражают актуальность диссертационной работы. Последовательность сформулированных вопросов, требующих решения, соответствует теме диссертации, а решение поставленных задач должно послужить основанием ее достижения.

В первой главе «обзор литературы» представлены современные представления по теме работы. Описан и всесторонне проанализирован большой объем современных экспериментальных и клинических работ отечественных и зарубежных авторов. В данной главе автором продемонстрировано умение идентифицировать и выделять актуальные нерешенные вопросы анализируемой проблемы.

В главе «Материалы и методы исследования» представлена подробная характеристика пациентов и добровольцев группы контроля, включенных в исследование. Проведен детальный анализ гендерной и возрастной характеристик изучаемых групп, описано распределение больных

доброкачественными и злокачественными новообразованиями толстой кишки по локализации опухоли и степени дифференцировки. Проведено качественное стадирование пациентов в соответствии с современными классификациями.

Число включенных в работу пациентов – 260 больной с заболеваниями толстой кишки и 50 практически здоровых доноров, которые составили группу контроля, представляется достаточным для достижения поставленной цели и решения задач диссертационной работы. Все методы, использованные в работе, информативны и современны. Содержание маркера выражали как нг/мл сыворотки крови. Аналитическая чувствительность составляет 0,183 нг/мл; перекрестной реакции с человеческим НР не выявлено. Статистическая обработка полученной информации проведена с использованием современных математических методов с учетом методологических требований Международного конгресса по гармонизации GGP “Статистические принципы для клинических исследований” и хорошо проиллюстрирована.

В третьей главе представлены результаты исследований, полученные автором собственноручно. Так, с целью определения порогового значения уровня зонулина в сыворотке крови контрольной группы, диссертантом было проведено исследование искомого маркера методом иммуноферментного анализа у 50 практически здоровых доноров в возрасте от 25 до 68 лет. Не обнаружено корреляционной зависимости между уровнями зонулина в сыворотке крови обследованных здоровых доноров группы контроля и их возрастом, однако превышение показателя наблюдалось у мужчин. Автором установлено статистически значимое превышение концентраций зонулина в сыворотке крови обследованных групп пациентов по отдельности относительно контроля. Необходимо подчеркнуть, что наименьшая концентрация сывороточного зонулина выявлена в группе больных функциональными нарушениями кишечника, а наибольшая – в группах пациентов с ВЗК и КРР. Автором было продемонстрировано, достоверное превышение искомого показателя в группе больных доброкачественными новообразованиями толстой кишки по сравнению с контрольной, и было сопоставимо с таковой при ВЗК. Кроме того, диссертантом достоверно доказано, что содержание зонулина в сыворотке крови больных КРР значимо выше, чем в контроле, и не связано с полом больных. Примечательно, что концентрация зонулина у больных КРР не отличалась от таковой у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и СРК смешанного типа. Также в данной главе представлены результаты исследования связи уровней зонулина в сыворотке крови больных с прогрессией рака толстой кишки. Так,

автором доказано, что концентрации сывороточного зонулина статистически значимо повышались при увеличении стадии колоректального рака, но не связаны со степенью дифференцировки аденокарциномы и локализацией опухоли в толстой кишке.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автором проведено тщательное обсуждение выявленных закономерностей в свете имеющихся данных мировой литературы.

Диссертационная работа заканчивается 7 выводами и практическими рекомендациями, а также представлены перспективы дальнейшей разработки темы, которые изложены ясно, научно обосновано, и логично завершают работу.

Принципиальных замечаний по работе не имеется. Научная и практическая значимость исследования не вызывает сомнений.

В рамках научной дискуссии хотелось бы получить от автора ответы на следующие вопросы:

1. Чем обусловлен выбор сывороточного, а не фекального зонулина для оценки кишечной проницаемости в Вашем исследовании?
2. Уточните, пожалуйста, какие пороговые уровни сывороточного зонулина выделены в обследованных группах?

### **Заключение**

На основании проведенного анализа считаю возможным заключить, что диссертационная работа Саяновой Екатерины Петровны «Клинико-лабораторное значение зонулина при заболеваниях толстой кишки» является самостоятельно проведенным законченным квалификационным научным трудом, содержащим решение задачи по определению клинико-диагностической значимости содержания зонулина в сыворотке крови пациентов с функциональными нарушениями и воспалительными заболеваниями кишечника, доброкачественными и злокачественными новообразованиями толстой кишки, открывающей принципиально новые возможности в оценке прогноза заболеваний различного генеза. Решение данной задачи имеет существенное значение для клинической лабораторной диагностики, онкологии, гастроэнтерологии и других смежных специальностей.

Диссертационная работа Саяновой Е.П. полностью соответствуют всем требованиям пп. 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автор

диссертации, Саянова Екатерина Петровна, заслуживает присуждения  
ученой степени кандидата медицинских наук по научной специальности  
3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика.

Официальный оппонент  
профессор 2 кафедры (терапии  
усовершенствования врачей)  
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия  
имени С.М. Кирова»  
Министерства обороны Российской Федерации  
доктор медицинских наук доцент



Кравчук Ю.А.

« 30 » октября 2024 г.

Адрес: 199155, Санкт-Петербург, Морская набережная, дом 41, кор 1, кв. 29

Телефон: +79112158033

Адрес эл. почты: [kravchuk2003@mail.ru](mailto:kravchuk2003@mail.ru)

