

Проректор по научно-инновационной
деятельности ФГБОУ ВО ВГМУ
им. Н.И. Бурденко Минздрава России,
д.м.н., профессор,
А.В. Будневский

« 25.11.2018 »

ОТЗЫВ

Ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации о научно-практической ценности диссертационной работы Урусхановой Жанны Эйсаевны «Морфофункциональные особенности сосудистых клубочков почки после локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки) в диссертационный совет 24.2.318.01 на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

Актуальность диссертационного исследования

Радиационно-индуцированная нефропатия является одним из осложнений воздействия различных видов ионизирующего излучения на почки, особенно при лучевой терапии злокачественных новообразований органов брюшинного пространства, брюшной полости и таза. С учетом ежегодного прироста онкологических заболеваний и частоты сопутствующего применения лучевой терапии необходимость изучения механизмов и последствий развития радиационно-индуцированной нефропатии становится все более актуальной.

Несмотря на накопленные данные о воздействии на структуры почек и, особенно, сосудистого клубочка, различных видов облучения, таких как гамма- и рентгеновское излучение, влияние корпускулярного облучения, в первую очередь электронов и протонов, изучено недостаточно. Однако наиболее часто используемые в лучевой терапии X- и γ -облучение повышают риск повреждения

окружающих здоровых тканей и развития осложнений, прежде всего к фиброзу. В отличие от них, бета-излучение имеет более низкую проникающую способность, что делает его более перспективным методом с минимальным повреждением здоровых тканей.

В настоящее время, требуют уточнения молекулярные механизмы острого постлучевого нарушения структур и функции почки. Поэтому влияние электронного излучения на сосудистые клубочки почек и каналцы нефронов остается малоизученным и требует дальнейшего детального исследования.

В условиях поиска более безопасных и эффективных методов радиопротекции аскорбиновая кислота является перспективным средством для предлучевой терапии благодаря своим многообразным механизмам действия.

Введение аскорбиновой кислоты может способствовать восстановлению повреждений ДНК путем ингибирования образования димеров тимина, а также уменьшать токсичность радиационного воздействия. Тем не менее, влияние аскорбиновой кислоты на маркеры оксидативного стресса, процессы репарации ДНК и ингибирование воспалительных маркеров, вызванных воздействием электронного облучения в модели радиационной нефропатии, остается недостаточно изученным.

Таким образом, научная работа Урусхановой Жанны Эйсаевны посвящена актуальной проблеме – исследованию морфологических и молекулярно-биологических изменений структур почки, вызванные локальным облучением электронами и предлучевым введением аскорбиновой кислоты.

Научная новизна исследования

Научная новизна диссертационного исследования связана с адаптацией линейного ускорителя электронов «NOVAC-11» при однократном локальном облучении почки и созданием модели радиационно-индуцированной нефропатии. Проведен комплексный морфологический и молекулярно-биологический анализ лучевых повреждений структур почки после воздействия электронами в разовых очаговых дозах (РОД) 2 Гр и 8 Гр, их адаптационная способность. Определена наиболее безопасная доза (2 Гр) электротерапии.

Впервые показано, что локальное облучение электронами в дозе 2 Гр и дозе 8 Гр структур почек обнаружили увеличению концентрации креатинина, азота мочевины, С-реактивного белка и цистатин-С-креатининового соотношения, особенно в РОД 8 Гр. При иммуноферментном анализе гомогената почки после однократного локального облучения электронами в дозах 2 Гр и 8 Гр обнаружено повышение концентрации малонового диальдегида и понижение уровня супероксиддисмутазы и глутатиона. Выявили уменьшение количества сосудистых клубочков, расширение капсулы Боумена, дистрофические изменения и частичная атрофия отдельных канальцев нефрона, периваскулярный и парагломерулярный отек, воспалительную инфильтрацию интерстициальной ткани, обилие кровеносных сосудов. Обнаруженные изменения были более выражены при РОД 8 Гр.

При иммуногистохимическом исследовании распределения маркера пролиферации и маркера терминальной стадии апоптоза в структурах почки после однократного облучения электронами в РОД 2 Гр и в РОД 8 Гр выявлено: уменьшение количества Ki-67-позитивных эндотелиоцитов сосудистых клубочков и эпителиоцитов проксимального и дистального отделов канальцев нефронов на фоне увеличения в этих клетках маркера каспаза-3. При TUNEL исследовании выявлено увеличение количества разрывов ДНК, возникших, вследствие апоптоза в эндотелиоцитах сосудистых клубочков и эпителиоцитах проксимального и дистального отделов канальцев нефрона после локального однократного облучения электронами, особенно в РОД 8 Гр. Показано, что однократного локального облучения электронами приводит к увеличению количества провоспалительных (IL-1, IL-6) и компенсаторно к противовоспалительных (IL-10, IL-4) цитокинов, как в сыворотке крови, так и в иммунокомпетентных клетках почки.

Показано протективное действие аскорбиновой кислоты, проявляющегося в поддержании физиологического тканевого гомеостаза почки в модели радиационно-индуцированной нефропатии после воздействия электронами в РОД 2 Гр и в РОД 8 Гр: усиливает действие маркеров естественной эндогенной редокс-системы, поддержание уровней универсальных ренальных маркеров клубочковой

филтрации, минимизации морфологических изменений структур почки и обеспечения пролиферативно-апоптотического баланса, снижение повреждения дезоксирибонуклеиновой кислоты, уменьшает степень воспалительной реакции.

Достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Степень обоснованности результатов обеспечена достаточным объемом репрезентативного материала. В работе применены современные методы статистического анализа. Выполнено сопоставление собственных данных с результатами, полученными другими исследователями изучаемой проблемы. На основании разработанных критериев включения и исключения сформированы группы с однородной выборкой из животных – самцов крыс аутбредного стока породы Вистар (вес 220 ± 20 грамм; возраст 9–10 недель; $n=90$).

В работе использованы методы оценки достоверности различий, зарекомендовавшие себя как наиболее эффективные статистические модели, чаще всего используемые в медицине. Данные были формализованы и внесены в электронные таблицы Microsoft Excel, содержащие необходимую информацию согласно дизайну.

Для всех количественных данных проводилась проверка на нормальность. При нормальном распределении вычислялось групповое среднее арифметическое (M) и стандартная ошибка (SE) / стандартное отклонение (SD) с использованием пакета анализа данных программы Microsoft Excel (версия 14.0.4760.1000, 32-разрядная). Полученные в результате подсчёта данные иммуногистохимического и морфометрического исследований обрабатывались с использованием компьютерной программы SPSS 12 for Windows statistical software package (IBM Analytics, США). Сравнения проводились с использованием дисперсионного анализа. Для проверки выборки на нормальность распределения использовался Критерий Шапиро-Уилка. Для определения корреляции использовался Н-критерий Краскела-Уоллиса с апостериорным критерием Данна. Множественные сравнения проводили при помощи U-теста Манна-Уитни. Статистически значимыми считались результаты при $p < 0,05$.

Фактический материал, проанализированный в диссертации, полностью соответствует первичной документации.

Таким образом, продуманный научный методологический подход и широкая представленность результатов работы в рецензируемых изданиях и на профильных конференциях среди специалистов свидетельствуют о достоверности результатов.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Теоретическая значимость диссертационной работы Ж.Э. Урусхановой заключается в раскрытии механизмов молекулярного и клеточного повреждения и адаптивного ответа ткани почки на уровне морфологических и молекулярно-биологических изменений, а также в идентификации специфических биохимических маркеров в условиях экспериментальной радиационной нефропатии, индуцированной однократным локальным воздействием электронами в дозах 2 Гр и 8 Гр, а также при введении аскорбиновой кислоты.

Практический вклад работы отражается в предоставлении новых ценных данных об изменениях в структуре и функциях почек после однократного локального воздействия электронами в дозах 2 Гр и 8 Гр с предварительным интраперитонеальным введением аскорбиновой кислоты, которые могут быть полезны для определения оптимальных доз облучения при проведении лучевой терапии, а также при исследованиях лучевых поражений почки для клеточной биологии, патологической анатомии, радиобиологии и онкоурологии. Эти результаты также могут способствовать разработке методов профилактики постлучевых осложнений органов брюшинного пространства, брюшной полости и малого таза. Дополнительно, выводы настоящего исследования могут быть использованы в клинических рекомендациях для патологоанатомов, врачей-радиотерапевтов, онкологов и специалистов других смежных специальностей.

Содержание работы и ее оформление

Диссертационная работа Ж.Э. Урусхановой изложена в классическом стиле, написана в соответствии с требованиями ГОСТ и стандартами, предъявляемыми к кандидатским диссертациям, по общепринятому для научных работ плану. Диссертационная работа содержит введение, обзор литературы, главу, описывающую материалы и методы исследования, главу с результатами

собственных исследований, главу анализа и обобщения результатов, подведены итоги выполнения диссертационной работы и определены перспективы развития темы диссертационной работы, выводы, практические рекомендации, имеет список обозначений и сокращений и список литературы, содержащий 131 источника. Работа изложена на 112 страницах машинописного текста и содержат 51 микрофотографических иллюстраций, а также 6 таблиц, что обеспечивает наглядность и детальное представление экспериментальных данных.

Во введении кратко и емко отражена наиболее актуальная информация по теме исследования, сделано обоснование научной новизны выбранной тематики, её актуальности, адекватно сформулирована цель, задачи исследования, доказана теоретическая и практическая значимость, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» проведен анализ имеющихся в доступе отечественных и зарубежных литературных источников по теме диссертационного исследования. Раскрыты вопросы этиологии и патогенеза развития различных форм радиационного повреждения почки, способам ее моделирования в эксперименте, оценке роли воспаления, анализу существующих способов диагностики и протекции, в том числе с применением антиоксидантных препаратов.

Глава «Материал и методы исследования» оформлена диссертантом грамотно, подробно и корректно описаны используемые материалы и методы исследования, указаны реагенты и протоколы различных методик, используемое оборудование. Методы исследования в диссертационной работе, включая использованную модель классического эксперимента (доклинического исследования), современные, информативны и в комплексе позволяют решить поставленные задачи и достичь поставленной цели исследования. Представлены исчерпывающие характеристики научного уровня, методического обеспечения работы.

В главе 3 автор приводит результаты собственных исследований. В ходе реализации научной работы диссертант выполнял гистологическое, морфометрическое, иммуногистохимическое (на маркеры Ki-67, Cas-3, IL1-β, IL4,

IL6, IL10, Tunel-метод), иммуноферментный анализ (на малоновый диальдегид, супероксиддисмутазу и глутатиона) проводил статистический анализ полученных результатов.

В главе, посвященной обсуждению полученных данных, сравнения с результатами отечественных коллег других научных групп и крупных мировых исследователей, выдвинут ряд аргументированных положений, важных как в научном, так и в практическом плане для медицины.

Автор показал, что локальное воздействие электронами (однократно, разовая очаговая доза 2 Гр и 8 Гр) инициирует развитие радиационно-индуцированной нефропатии, характеризующейся морфологическими (прежде всего – уменьшение количества клубочков, дистрофия эпителия канальцев нефрона, воспалительная реакция, разрастание волокнистого компонента), и функциональными (увеличение ключевых маркеров клубочковой фильтрации, оксидативный стресс) изменениями, особенно в высокой дозе. Аскорбиновая кислота инициирует компенсаторно-приспособительные реакции в ответ на облучение почки электронами, стимулируя компоненты локальной эндогенной редокс-системы (нейтрализуя свободные радикалы), являясь одним из сильнейших восстановителей, что связано с её способностью взаимодействовать с молекулярным кислородом и образовывать активные его формы, снижая степень выраженности лучевого поражения.

Сформулированные выводы и практические рекомендации полностью соответствуют целям и поставленным задачам диссертационного исследования, доказательны и обоснованы.

Выявленные недостатки и замечания

Принципиальных замечаний к работе нет. В тексте диссертации встречаются опечатки и погрешности стилистики, однако это абсолютно не снижает ценность и значимость работы автора, которая оценивается нами на высоком уровне.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную работу федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации. (Акт внедрения (использования) новой

технологии б/н от 11.09.2024 г.). Полученные в ходе исследования результаты внедрены в учебный процесс Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) при изучении дисциплины, читаемой аспирантам по направлению подготовки научной специальности 1.5.22. Клеточная биология (Акт о внедрении №497 от 11.09.2024 г.).

Анализ публикаций по теме работы

Материалы диссертации достаточно полно изложены в 4 опубликованных работах автора, из них 3 – в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, из них 1 научная статья в издании из базы данных RSCI, и 2 статьи в журналах, индексируемых Scopus.

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.

Заключение

На основании вышеизложенного, диссертация Урусхановой Жанны Эйсаяевны «Морфофункциональные особенности сосудистых клубочков почки после локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология, является научно-квалификационной работой, в которой имеется решение важной научно-практической задачи – выявлены морфофункциональные изменения клубочков и канальцев почки при радиационно-индуцированной нефропатии, вызванной однократным локальным облучением электронами в дозах 2 Гр и 8 Гр, установлены дозозависимые эффекты; раскрыты интратенальные регуляторные механизмы поддержания локального гомеостаза, а также при предлучевом введении аскорбиновой кислотой. По своей актуальности, научной новизне, практическому значению, глубине и объему проведенных исследований, а также достоверности полученных результатов диссертация Ж.Э. Урусхановой соответствует требованиям «Положения присуждении ученых степеней»,

утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842 (в редакции постановления Правительства Российской Федерации от 25.01.2024 № 62), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании кафедры гистологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации от «28» мая 2026 года, протокол № 9.

Заведующий кафедрой гистологии,
кандидат медицинских наук
по специальности 1.5.8. Математическая биология, биоинформатика,
доцент

Шишкина Виктория Викторовна

матика,

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России). Адрес: 394036, г. Воронеж, улица Студенческая, дом 10. Тел.: +7(473)259-89-90; <https://vrngmu.ru/>; E-mail: mail@vrngmu.ru

Подпись к.м.н., доц. В.В. Шишкиной заверяю:

Ученый секретарь
ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России,
доктор медицинских наук

Л.А. ТИТОВА

