

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, профессора Гуреева Владимира Владимировича на диссертационную работу Урусхановой Жанны Эйсаяевны «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 избранной темы

Радиационно-индуцированная нефропатия является одним из осложнений действия ионизирующего излучения на структуры почки как при проведении лучевой терапии злокачественных новообразований непосредственно в самом органе, так и в забрюшинном пространстве. Учитывая сохраняющуюся тенденцию к росту заболеваемости раком почки и широкое применение лучевой терапии в клинической практике, исследования, направленные на изучение механизмов развития радиационного повреждения структур почки и, прежде всего, сосудистого клубочка и нефрона, то поиск способов его профилактики, представляются весьма актуальными.

Известно, что воздействие электронного излучения, как и других видов ионизирующего излучения, сопровождается одно- и/или двучечечными разрывами ДНК в клетках и усилением процессов свободнорадикального окисления, что приводит к развитию апоптотических процессов в различных структурах почки, включая эндотелиальные клетки сосудистых клубочков и эпителия нефрона. Однако, отсутствуют данные о корреляции этих изменений с дозой излучения и режимом (фракционное или однократное).

С другой стороны, значительный научный и практический интерес представляет изучение радиопротективных свойств различных лекарственных препаратов, способных снижать прежде всего степень оксидативного стресса и повреждение тканей, индуцированное воздействием электронотерапии. Среди

таких препаратов особое внимание в последнее время уделяется аскорбиновой кислоте, обладающая выраженными антиоксидантными свойствами и, вероятно, способностью снижать тяжесть радиационно-индуцированной нефропатии.

Подытоживая, вопросы дозозависимого влияния электронного излучения на морфофункциональное состояние структур почки, а также особенности активации интратрениальных регуляторных механизмов при радиопротекторном применении аскорбиновой кислоты остаются недостаточно изученными.

Таким образом, диссертационная работа Урусхановой Жанны Эйсаяевны является актуальной и представляет научный интерес, несет важную теоретическую и практическую значимость.

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

Автором лично проведен подбор и анализ научной литературы в русле выбранной темы, разработан дизайн исследования, скомплектованы базы данных и цифровой архив изображений, к анализу привлечен комплекс современных методов клеточной биологии. Степень обоснованности результатов обеспечена достаточным объемом репрезентативного материала. 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 ходе реализации научной работы диссертант лично выполнял гистологическое, морфометрическое, иммуногистохимическое (на маркеры Ki-67, Cas-3, IL1- β , IL4, IL6, IL10, Tunel-метод), иммуноферментный анализ (на малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза и глутатиона).

В работе использовался комплексный подход к статистическому анализу: 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). Парные сравнения проведены при помощи U-теста Манна-Уитни. Статистически значимыми считались результаты при $p < 0,05$.

Основные результаты диссертационного исследования были доложены и всесторонне обсуждены на российских и международных конференциях.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

Впервые установлены морфологические, иммуногистохимические и биохимические признаки радиационно-индуцированной нефропатии после локального воздействия электронами в разовых очаговых дозах 2 Гр и 8 Гр. Это сопровождается дисбалансом ключевых маркеров локальной редокс-системы, снижением митотической активности нефроцитов, усилением апоптоза, развитием воспалительной реакции. Наиболее выраженные изменения выявлены при дозе 8 Гр.

На основании проведенного сравнительного морфологического анализа структур почки в условиях экспериментальной радиационной нефропатии, выявлено, что аскорбиновая кислота приводит к активации компенсаторно-приспособительных реакций, она являясь одним из сильнейших восстановителей стимулирует компоненты локальной эндогенной редокс-системы, снижая степень выраженности лучевого поражения; демонстрирует репаративные свойства, направленные на поддержание пула эпителиальных и эндотелиальных клеток, путем минимизации фрагментации ДНК, стабилизируя пролиферативно-апоптотический баланс, а также играет важную роль в модуляции воспалительных процессов благодаря способности регулировать уровень цитокинов или, возможно, влияя на функцию иммунных клеток.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Теоретическая значимость исследования заключается в расширении представлений о механизмах развития радиационно-индуцированной нефропатии, включая процессы апоптоза, воспаления, оксидативного стресса и интратрениальной регуляции гомеостаза при воздействии электронного излучения в дозах 2 и 8 Гр. Полученные результаты позволили уточнить роль молекулярно-клеточных механизмов повреждения почечной ткани и оценить протекторный потенциал аскорбиновой кислоты.

Практическая значимость работы состоит в обосновании возможности применения аскорбиновой кислоты для снижения выраженности радиационно-индуцированной нефропатии. Это может быть использовано при разработке подходов к профилактике постлучевых осложнений, совершенствовании режимов лучевой терапии и в дальнейших исследованиях по клеточной биологии, радиобиологии и фармакологии.

Полнота освещения результатов диссертации в печати

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 диссертации паспорту научной специальности

Диссертация на тему «Морфофункциональные особенности сосудистых клубочков почки после локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук соответствует шифру специальности 1.5.22. Клеточная биология. Области исследования диссертационной работы соответствуют пунктам: 10, 13, 14 паспорта научной специальности 1.5.22. Клеточная биология.

Оценка содержания работы, ее завершенности в целом

Диссертационная работа представляет собой рукопись на русском языке объемом 112 страниц машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы описания материала и методов, главы, посвященной результатам собственного исследования, обсуждения результатов исследования, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 6 таблицами и 51 рисунками. Список цитируемой литературы включает 131 источник, из которых 22 отечественных, 109 – зарубежных.

Во введении автором обоснована актуальность комплексного морфологического изучения патологических изменений структур почки после локального облучения электронами в РОД 2 Гр и РОД 8 Гр и эффективности использования препарата аскорбиновой кислоты с целью снижения выраженности возникших морфофункциональных изменений.

В обзоре литературы автором представлены подробные сведения об методах лучевой терапии, рассмотрены аспекты радиационно-индуцированной нефропатии, а также радиопротекторные эффекты некоторых препаратов.

Во второй главе подробно представлены исчерпывающие сведения о материале исследования, рассмотрены использованные методы, включающие гистологический, гистохимический, иммуногистохимический, иммуногистоморфометрический методы, иммунофлуоресцентный метод, биохимический и иммуноферментные методы, а также методы статистической обработки полученных результатов.

В главе, содержащей результаты собственных исследований автором показано, что

- дозозависимый характер морфологических изменений структур почек при однократном локальном облучении электронами;
- морфологические и молекулярно-биологические изменения структур почки после воздействия в разовых очаговых дозах 2 Гр и 8 Гр;

- уменьшение количества Ki-67-позитивных эндотелиоцитов клубочковой капиллярной сети и эпителиоцитов проксимального и дистального почечных канальцев на фоне увеличения в этих клетках каспаза-3;

- увеличение количества разрывов ДНК по результатам TUNEL исследования;

- биохимические системные изменения ключевых воспалительных и ренальных маркеров в сыворотке крови;

- предлучевое введение аскорбиновой кислоты (до локального воздействия электронами) проявляет ее радиопротекторные свойства, выраженные в снижении уровня оксидативного стресса, воспалительных реакций и апоптоза в структурах почек.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор сопоставляет данные своего диссертационного исследования с имеющиеся источниками других. Автор вновь актуализирует тему, говоря, что в настоящее время воздействие электронов на структуры почки, а именно параметры дозирования, характер и глубина повреждений при разовом и фракционном облучении, а также введение радиопротекторов, остается недостаточно изученным. Разработка и усовершенствование экспериментальных моделей радиационно-индуцированной нефропатии является актуальным. И подытоживает – предлучевое введение аскорбиновой кислоты показывает протективное действие, снижая степень выраженности поражения сосудистых клубочков и нефроцитов.

Выводы диссертации соответствуют цели исследования и установленным для ее достижения задачам, логично вытекают из полученных результатов.

Таким образом, диссертационная работа Урусхановой Жанны Эйсаевны представляется законченным научным исследованием, выполненным автором на высоком методическом уровне. Принципиальных замечаний по работе нет. Имеющиеся немногочисленные стилистические неточности не снижают ценности работы.

Соответствие содержания автореферата основным положениям и выводам диссертации

Автореферат диссертационной работы полностью соответствует рукописи диссертации. В автореферате отражены ключевые результаты исследования, доказывающие выносимые на защиту положения. Приведены иллюстративные материалы по результатам всех использованных автором методов исследования, а также предоставлены важнейшие результаты статистического анализа.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

При анализе диссертации Ж.Э. Урусхановой не возникло принципиальных замечаний.

Однако в плане дискуссии, хотелось бы услышать мнение автора по следующим моментам:

1. Поиск наиболее эффективных лекарственных средств и других продуктов в качестве радиопротекторов абсолютно актуален. Чем обоснован Ваш выбор аскорбиновой кислоты в качестве радиопротектора, подбор её дозы?

2. Какие основные прямые и опосредованные её эффекты на эндотелий сосудистого клубочка, нефроцитов и другие структуры почки, какие механизмы при этом запускаются?

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 интратрениальные 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 присуждения 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.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук

(по специальности 3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология),

профессор, главный научный сотрудник лаборатории лекарственной токсикологии Института экспериментальной кардиологии

ФГБУ «НМИЦК им. акад. Е.И. Чазова»

Гуреев Владимир Владимирович

03.06.2024

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е.И. Чазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦК им. акад. Е.И. Чазова»). Адрес: 121552, Российская Федерация, г. Москва, улица Академика Чазова, д. 15А. Тел.: +7(495)1504419; <https://www.cardio.ru/> E-mail: produmen@yandex.ru

Подпись Гуреева Владимира Владимировича заверяю:

Ученый секретарь НИИЭК ФГБУ

«НМИЦК им. акад. Е.И. Чазова» Минздрава России

д.м.н.



О.С. Плеханова