

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата медицинских наук Кульченко Нины Геннадьевны на диссертационную работу 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 избранной темы

Радиационно-индуцированная нефропатия (РИН) является одним из осложнений воздействия различных видов ионизирующего излучения на почки, а также при лучевой терапии (ЛТ) злокачественных новообразований органов брюшинного пространства, брюшной полости и таза. С учетом ежегодного прироста онкологических заболеваний и частоты применения ЛТ необходимость изучения механизмов и последствий РИН становится все более актуальной.

Действие электронов, как и других видов ионизирующего излучения, направлено на индукцию разрывов ДНК (преимущественно в опухолевых клетках), а также на генерацию свободных радикалов, приводящую к нарушению редокс-гомеостаза и активации редокс-зависимых сигнальных каскадов. При этом апоптоз клеток наблюдается в большинстве структур почки, прежде всего — в эндотелии сосудистых клубочков и в нефроцитах. В этих процессах ключевая роль принадлежит активации каспазного каскада.

В этой связи также актуальны исследования радиопротективных свойств существующих лекарственных препаратов и поиск новых. Действие большинства антиоксидантов (аскорбиновая кислота, N-ацетилцистеин и др.) направлено на снижение степени местной окислительной реакции, что делает их перспективными для профилактики ранних или поздних радиационно-индуцированных повреждений почки. Из целого ряда лекарственных

препаратов с необходимыми свойствами, аскорбиновая кислота, пожалуй, обладает высокой антиоксидантной активностью.

На сегодняшний день, существует определенный дефицит данных о дозозависимом эффекте воздействия электронов на структуры почки и активации интратрениальных регуляторных механизмов при предлучевом введении аскорбиновой кислотой.

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

Степень обоснованности результатов обеспечена достаточным объемом репрезентативного материала. В работе применены современные методы статистического анализа. 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 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 подсчета 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 VII Международном форуме онкологии и радиотерапии «Ради жизни» (г. Москва, 2024 г.) и Международной онлайн-конференции «Научный диалог: естественные науки» (г. Чебоксары, 2024 г.).

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов

На основании завленной цели и поставленных задач, применимых специализированных методов морфологического исследования и статистического анализа результаты достоверны, выводы обоснованы.

Впервые, при комплексном исследовании структур почки после воздействия электронами в разовых очаговых дозах (РОД) 2 Гр и 8 Гр, выявлены признаки радиационно-индуцированной нефропатии: уменьшение количества клубочков, дистрофические изменения и частичная атрофия отдельных канальцев нефрона; уменьшение количества Ki-67-позитивных клеток клубочков и эпителиоцитов проксимального и дистального канальцев на фоне увеличения в этих клетках экспрессии каспазы-3 (маркера апоптоза) и TUNEL-позитивности; клеточная воспалительная инфильтрация интерстициальной ткани. Обнаруженные изменения были более выражены при РОД 8 Гр и сочетались с разрастанием волокнистого компонента соединительной ткани. Кроме того, наблюдается увеличение количества провоспалительных (IL-1, IL-6, TNF- α) и компенсаторное повышение противовоспалительных (IL-10, IL-4) цитокинов, а также рост концентрации креатинина, азота мочевины, С-реактивного белка и соотношения цистатин С / креатинин, особенно при РОД 8 Гр. При 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. Определена наиболее безопасная доза – РОД 2 Гр.

Впервые установлено, что аскорбиновая кислота оказывает выраженное протективное действие, способствуя поддержанию физиологического тканевого

гомеостаза почки в условиях экспериментальной радиационной нефропатии, индуцированной однократным локальным воздействием электронами в дозах 2 Гр и 8 Гр. Ее эффект проявляется в активацией маркеров системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной эндогенной системы, снижении степени повреждения структур почки, модуляции биохимических показателей клубочковой фильтрации, нормализации пролиферативно-апоптотического баланса за счет уменьшения повреждений дезоксирибонуклеиновой кислоты, а также в ослаблении системного и локального воспаления.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Автором внесен существенный теоретический вклад в понимание клеточной биологии изменений структур почки в условиях экспериментальной радиационной нефропатии, индуцированных локальным однократным электронным облучением дозами 2 Гр и 8 Гр.

Воздействие электронами также приводит к разрывам ДНК в эндотелии клубочка почки и эпителии проксимальных и дистальных канальцев нефрона, что показано TUNEL методом и указывает на появление гипоксии в условиях радиационно-индуцированной нефропатии. Полученные TUNEL методом результаты могут быть полезны для разработки стратегии профилактики, оценки эффективности лечения и прогнозирования лучевых осложнений. Использование TUNEL метода в экспериментальных исследованиях позволяет анализировать молекулярные механизмы, лежащие в основе гипоксии, возникающие в результате РИН, а также выявлять потенциальные мишени для фармакологического применения различных лекарственных препаратов, прежде всего протекторов. Однократное воздействие электронами, даже при локальном облучении приводит к увеличению в системном кровотоке провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α), а также активации компенсаторно-приспособительных реакций, в том числе повышению концентраций противовоспалительных ИЛ-10 и ИЛ-4 цитокинов.

Диссертационное исследование открывает широкие перспективы для развития персонализированной противоопухолевой терапии. В радиобиологической, онкологической и урологической практике при назначении электронотерапии следует учитывать дозозависимое развитие радиационно-индуцированного фиброза с целью возможной его протекции и профилактики, а морфологическая оценка постлучевого состояния гломерулярного аппарата почки может быть использована в работе врача-патологоанатома.

Полнота освещения результатов диссертации в печати. Количество публикаций в журналах Перечня ВАК РФ и индексируемых в международных базах данных

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, включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, а также

библиографический список, содержащий 131 источников (22 отечественных и 109 зарубежных). Материалы работы представлены на 112 страницах машинописного текста и содержат 51 микрофотографических иллюстраций, а также 6 таблиц, что обеспечивает наглядность и детальное представление экспериментальных данных.

Во введении автор подчеркивает актуальность темы диссертации и степень ее разработанности, формулирует цель и задачи, показывает научную новизну, теоретическую и практическую значимость работы, представляет основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе, которая содержит обзор литературы о современном состоянии проблемы, автор приводит данные о роли воздействия ионизирующего излучения в различных режимах и разных дозах, подчёркивая, что модель облучения почки электронами проведена впервые. Отдельно автор делает акцент на выборе радиопротекторов, показывая, насколько это необходимо в онкологической практике, и сравнивает терапевтические и побочные эффекты различных лекарственных препаратов.

Во второй главе, традиционно отведенной под материалы и методы исследования, автор не просто перечисляет, но и детально раскрывает суть современных морфологических методик, описывая их принципы выполнения и области применения.

Далее следует третья глава, посвященная собственным результатам. Проведенная комплексная работа продемонстрировала дозозависимый характер морфологических изменений структур почек при однократном локальном облучении электронами. Однократное облучение в разовых очаговых дозах 2 Гр и 8 Гр приводит к уменьшению количества клубочков, дистрофическим изменениям и частичной атрофии эпителия проксимальных и дистальных канальцев нефрона, уменьшению количества Ki-67-позитивных эндотелиоцитов и эпителиоцитов на фоне повышения уровня каспазы-3 в этих клетках, а также к клеточной воспалительной инфильтрации, разрастанию

волокнистого компонента и обилию кровеносных сосудов. Обнаруженные изменения были более выражены при РОД 8 Гр.

В главе «Обсуждение полученных результатов» автор, подводя итоговый анализ собственных данных, сопоставляет их с немногочисленными доступными источниками других исследователей по данной проблеме, анализируя сходства и различия, а также интерпретируя выявленные закономерности.

В качестве перспективы развития темы диссертационной работы автор указывает на целесообразность использования современных молекулярно-биологических (пространственный анализ) и молекулярно-генетических (в том числе протеомика) методов для более детального изучения механизмов радиационного повреждения на разных уровнях.

Работа выполнена профессионально, методически грамотно подана с большим количеством высококачественного иллюстративного материала. Заключение и выводы, представленные по итогам проведенного комплексного исследования, соответствуют поставленной цели и задачам.

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

Диссертация Ж.Э. Урусхановой не вызвала принципиальных замечаний. Но обратило на себя внимание следующее:

- в некоторых подписях к рисункам и в тексте встречаются мелкие стилистические и грамматических погрешности (например, «Микропрепарат почки VI» вместо «Микропрепарат почки животного группы VI»);

- местами встречались тривиальные названия;

- преобладание ссылок на иностранные источники;

- в разделе 4.4. Перспективы развития темы. автор упоминает необходимость использования современных молекулярно-биологических и молекулярно-генетических методов (пространственный анализ, протеомика). Детализация, «для чего» именно эти методы могут быть применены – например, для выявления новых биомаркеров или изучения сигнальных путей, наверное, было бы, оправданным.

В ходе изучения диссертационной работы возникли следующие вопросы:

1) Эвтаназия животных проводилась на 7-е сутки после облучения. Почему был выбран именно этот временной интервал? Насколько можно экстраполировать выявленные изменения (особенно фиброз и TUNEL-позитивность) на поздние (хронические) стадии радиационной нефропатии, и планируется ли исследование в более отдалённые сроки (например, 30, 60, 90 суток)?

2) Известно, что аскорбиновая кислота в высоких дозах может проявлять прооксидантные свойства. Чем Вы руководствовались, выбирая и используя в работе дозу аскорбиновой кислоты 50 мг/кг?

Заключение

На основании вышеизложенного, диссертация Урусхановой Жанны Эйсаевны «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 интратренальные 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:

кандидат медицинских наук

(по специальности 3.1.13. Урология и андрология),

Ведущий научный сотрудник НОРЦ «Молекулярная морфология»

ФГАОУ ВО РУДН

Кульченко Нина Геннадьевна



«03» «06» 2026 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (ФГАОУ ВО «РУДН им. П. Лумумбы»). Адрес: 1117178, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. Тел.: +7 (499) 936-87-87; <https://www.rudn.ru/> E-mail: information@rudn.ru

Подпись к.м.н. Н.Г. Кульченко заверяю:

Ученый секретарь

Учёного совета ФГАОУ ВО РУДН



К.П. Курылев