

## УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-инновационной  
деятельности ФГБОУ ВО ВГМУ  
им. Н.Н. Бурденко Минздрава России  
доктор медицинских наук, профессор

А.В. Будневский

« 25 » 04 2015 г.

## 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 значимости диссертации Якименко Владислава Андреевича на тему «Структурно-функциональная характеристика печени после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

### Актуальность темы выполненной работы

Лучевой гепатит развивается как при непосредственном облучении злокачественных новообразований печени, так и органов брюшной полости, однако меры его лечения и профилактики еще нуждаются в уточнении. Современные исследования, в основном, посвящены раскрытию механизмов воздействия X- и  $\gamma$ -излучения, обладающих высокой цитотоксичностью, особенно в отношении здоровых тканей. Лучевое поражение печени сопровождается снижением синтетических, метаболических и детоксикационных функций, в ряде случаев приводя к печеночной недостаточности. В тоже время малоизученными остаются изменения структур печени после воздействия  $\beta$ -излучения, являющегося одним из перспективных направлений современной лучевой терапии, ввиду его низкой проникающей способности и обладающие меньшим повреждающим действием на окружающие здоровые ткани. Поэтому его можно использовать как альтернативу, в том числе при интраоперационном облучении опухолей печени и органов верхнего этажа брюшной полости. Параллельно ведется активный поиск радиопротекторов. Одним из немногих рекомендованных лекарственных препаратов с доказанной эффективностью в отношении лучевых повреждений является амифостин, однако он вызывает ряд побочных действий. Это еще

более актуализирует разработку средств-аналогов для радиопротекции печени. Выбор аскорбиновой кислоты в качестве радиопротектора является актуальным по некоторым показателям и ранее не рассматривался в этом направлении.

Таким образом, проведенный комплексный анализ состояния морфологических и молекулярно-биологических структур печени после воздействия электронами в сочетании с аскорбиновой кислотой является актуальным и своевременным на фоне достаточного количества критериев: оценки пролиферации, дифференцировки и апоптоза гепатоцитов, степени выраженности воспалительной реакции, активизации эндогенной редокс-системы, а также поиска предикторов фиброза.

### **Связь работы с планом соответствующих отраслей науки и народного хозяйства**

Диссертационная работа Якименко Владислава Андреевича, посвященная выявлению морфофункциональных особенностей структур печени после воздействия электронами и предлучевого введения аскорбиновой кислоты, имеет большое теоретическое и практическое значение; полученные результаты и выводы могут быть использованы при планировании научных исследований, направленных на дополнительное изучение механизмов развития радиационно-индуцированного поражения печени и способов его протекции, что является наиболее важным в онкологической помощи населению, особенно в трудоспособной группе.

### **Новизна исследования и полученных результатов**

В рамках диссертационного исследования определены структурные и функциональные изменения печени после воздействия электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр, а также при предлучевом введении аскорбиновой кислоты.

Автором показано, что после локального фракционного воздействия электронами повышаются уровни ИЛ-1, ИЛ-6 и ИЛ-10 как в системном кровотоке, так и в ткани печени, которые сохранялись локально в течение длительного периода времени, что приводило к активации фиброза и усилению печеночной недостаточности, проявляющейся повышением уровней аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и общего билирубина, в том числе повышение уровня малонового диальдегида и понижение концентрации супероксиддисмутазы на ранних сроках.

Локальное воздействие электронами в режиме фракционирования в СОД 30 Гр в остром периоде приводило к пролиферативно-апоптотическому дисбалансу с уменьшением количества делящихся (Ki-67↓) при одновременном увеличении доли погибающих (каспаза 3↑, TUNEL↑) гепатоцитов и повышению уровня экспрессии генов *Bax*, *Bcl-2*, и *Caspase 3*.

Впервые автором установлены маркеры-предикторы для раннего выявления в печени признаков радиационно-индуцированного фиброза в виде коэкспрессии  $\alpha$ -SMA и TGF- $\beta$ , что указывает на активацию клеток Ито и других непаренхиматозных клеток.

Предлучевое введение аскорбиновой кислоты обеспечивало поддержание локального внутрипеченочного гомеостаза – баланса маркеров редокс-системы, пролиферации и апоптоза, фрагментации ДНК, снижения степени воспалительной реакции и фиброзирования, что констатирует ее радиопротективный эффект.

#### **Значимость для науки и практики полученных автором результатов**

Получены новые и дополнены существующие данные о морфологических и молекулярно-биологических нарушениях структур печени, а также изменениях биохимических параметров после фракционированного локального облучения электронами в суммарной очаговой дозе 30 Гр. Воздействие электронами во фракционном режиме СОД 30 Гр приводило к изменению уровней пролиферации и апоптоза гепатоцитов в сторону гибели этих клеток, увеличению TUNEL-позитивных клеток.

По результатам гистологического, биохимического и иммуногистохимического исследований подтверждено радиопротекторное свойство аскорбиновой кислоты, которое проявлялось в восстановлении пролиферативно-апоптотического баланса гепатоцитов, снижении степени воспалительной реакции и возрождении индикаторов естественной антиоксидантной защиты. Коэкспрессию  $\alpha$ -SMA и TGF- $\beta$  в клетках Ито можно рассматривать в качестве маркеров-предикторов раннего радиационно-индуцированного фиброза печени. Была предложена шкала морфологических изменений печени, которую можно использовать при диагностике гепатитов не только постлучевой этиологии.

Практический вклад работы отражается в предоставлении новых ценных данных об изменениях в структуре и функциях печени после локального облучения электронами в режиме фракционирования с суммарной очаговой дозе 30 Гр с предварительным

интраперитонеальным введением аскорбиновой кислоты, которые могут быть использованы для определения оптимальных доз электронотерапии в области клеточной биологии, патологической анатомии, радиобиологии и онкологии. Эти результаты также могут способствовать разработке методов профилактики постлучевых осложнений органов брюшной полости. Дополнительно, полученные результаты настоящего исследования могут быть использованы в клинических рекомендациях для врачей-патологоанатомов, врачей-радиотерапевтов, онкологов и врачей других смежных специальностей.

#### **Личный вклад автора**

Якименко Владислав Андреевич самостоятельно выполнил все этапы диссертационного исследования, сформулировал цель и задачи, разработал алгоритм методов исследования, провел статистическую обработку результатов исследования, представил и обосновал положения и выводы. Автором произведен и проанализирован обзор научной литературы, который соответствует тематике диссертационного исследования. В ходе реализации научной работы диссертант лично выполнил общее гистологические, гистохимические и иммуногистохимические исследования. Диссертантом проведена мультиплексная иммунофлуоресцентная микроскопия ( $\alpha$ -SMA,  $\beta$ -TGF), иммуноферментный анализ (MDA, SOD, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-10, TNF- $\alpha$ ). По всем исследуемым критериям самостоятельно проведен статистический анализ полученных результатов.

#### **Рекомендации по использованию результатов исследования**

Дальнейшие исследования данной тематики демонстрируют широкие перспективы для раскрытия механизмов радиационного-индуцированного поражения печени и других органов, а также роли радиопротекторов. Такие работы могут быть успешно реализованы на базе кафедр гистологии, клинической практике и специализированных лабораторий, занимающихся изучением проблем современной радиобиологии и доклиническими исследованиями.

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную работу ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Акт внедрения новой технологии б/н от 11.09.2024 г. Полученные в ходе исследования результаты внедрены в учебный процесс аспирантов Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по

направлению подготовки / научной специальности 1.5.22. Клеточная биология. Акт о внедрении №494 от 11.09.2024 г.

### **Количество печатных работ**

По результатам исследования диссертантом опубликовано семь научных работ, из них четыре – в изданиях из RSCI и в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета/ Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; одна статья в изданиях, индексируемых в международных базах (Scopus); а также две публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

### **Достоинства и недостатки оформления диссертации**

Диссертация изложена на 131 странице машинописного текста и построена по классическому типу: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы, включает 179 источников (отечественные – 20, зарубежные – 159).

Во введении автором подчеркнута актуальность и степень разработанности темы, сформулирована цель и задачи, которые отражены в положениях, выносимых на защиту показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость.

В первой главе – обзор литературы, автор провел анализ современного состояния проблемы, привел данные о морфологических, молекулярно-биологических и молекулярно-генетических изменениях в печени при воздействии различных видов ионизирующего излучения и эффекты применения радиопротекторов. В заключении по обзору литературы автор подчеркивает необходимость и актуальность проведения данного исследования с детальным морфологическим и молекулярно-биологическим анализом структурных образований печени после облучения электронами и предлучевого введения аскорбиновой кислоты.

Во второй главе представлены материалы и методы диссертационного исследования, где отдельно следует подчеркнуть использование автором современных методик клеточной биологии, в том числе мультиплексного иммуногистохимического анализа и TUNEL.

Далее следуют главы, посвященные собственным результатам и их обсуждению. Иллюстративный материал состоит из 42 рисунков, включающих микрофотографии, фотоколлаж, рисунки-графики, в том числе шесть таблиц.

В заключении автор приводит итог выполненного диссертационного исследования.

Диссертация Владислава Андреевича Якименко характеризуется логичностью, целостностью, последовательностью изложения материала, четкостью и ясностью формулировок, большого количества высококачественного иллюстративного материала, подтверждающего результаты выполненного исследования. Заключение и выводы, представленные по итогам проведенного комплексного исследования, соответствуют поставленной цели, задачам и подтверждены положениями, выносимыми на защиту.

В диссертации содержатся незначительные опечатки. Принципиальных замечаний и вопросов по содержанию диссертационной работы нет.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Владислава Андреевича Якименко на тему «Структурно-функциональная характеристика печени после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи – выявлены структурнофункциональные изменения в печени, раскрыты механизмы регуляции местного внутрипеченочного гомеостаза в условиях радиационно-индуцированного поражения с применением в качестве радиопротектора аскорбиновой кислоты.

Диссертационная работа по своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, объему проведенных исследований полностью соответствует требованиям п. 16 Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), утвержденного приказом ректора № 0692/Р от 06.06.2022 г. (с изменениями, утвержденными: приказом №1179 от 29.08.2023 г., приказом №0787/Р от 24.05.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Якименко Владислав Андреевич, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности – 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки).

Диссертационная работа и настоящий отзыв обсуждены и одобрены на научной конференции кафедры гистологии ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко (протокол № 20 от 24.04.2025 г.).

Профессор кафедры гистологии  
ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России,  
заслуженный работник высшей школы РФ,  
доктор биологических наук  
(05.13.01. Системный анализ, управление и обработка  
информации), профессор



Воронцова Зоя Афанасьевна

«24» «апреля» 2025 г.

Подпись д.б.н., проф. З.А. Воронцовой заверяю:  
Ученый секретарь  
ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России  
доктор медицинских наук




Л.А. Титова

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](mailto:mail@vrngmu.ru)