

Заключение

диссертационного совета ДСУ 208.001.31 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

аттестационное дело № 74.02-18/198-2025

решение диссертационного совета от 15 сентября 2025 года № 11

О присуждении Пугачевой Екатерине Николаевне, гражданке России, ученой степени кандидата медицинских наук.

Диссертация «Морфологические особенности овофолликулогенеза после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты», в виде рукописи по специальности 1.5.22. Клеточная биология принята к защите 09 июня 2025 г., протокол № 9 диссертационным советом ДСУ 208.001.31 ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, дом 8 , строение 2 (Приказ ректора № 1442/Р от 17.10.2023г.)

Пугачева Екатерина Николаевна, 1990 года рождения, в 2016 году окончила государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по специальности «Лечебное дело».

В 2024 году прикреплена для подготовки диссертации на соискание ученой степени кандидата наук без освоения программ подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре.

С 2022 года работает врачом акушером-гинекологом гинекологического отделения частного учреждения ООО «Лечебный центр», город Москва по настоящее время.

Диссертация «Морфологические особенности овофолликулогенеза после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты» по специальности 1.5.22. Клеточная биология выполнена в Центре доклинических исследований Института трансляционной медицины и биотехнологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и в лаборатории экспериментальной морфологии и цифровой патологии Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба - филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор, Демяшкин Григорий Александрович, Медицинский радиологический научный центра имени А.Ф. Цыба - филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации ФГБУ, отдел патоморфологии, заведующий отделом; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский университет), Институт трансляционной медицины и биотехнологии, Центр доклинических исследований, лаборатория гистологии и иммуногистохимии, заведующий лабораторией.

Официальные оппоненты:

- Асатурова Александра Вячеславовна, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 1-е патологоанатомическое отделение, заведующий отделением;
- Карев Вадим Евгеньевич, доктор медицинских наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней» Федерального медико-биологического агентства, научно-исследовательский отдел патоморфологии, заведующий отделом кафедрой – дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Воронеж в своем положительном отзыве, подписанном заслуженным работником высшей школы РФ, доктор биологических наук, профессором Воронцовой Зоей Афанасьевной – профессором кафедры гистологии указала, что диссертационная работа Е.Н. Пугачевой на тему «Морфологические особенности овофолликулогенеза после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи - выявлено радиопротекторное действие аскорбиновой кислоты в отношении овариальных фолликулов при радиационно-индуцированной преждевременной недостаточности яичников, вызванной воздействием электронами в режиме фракционирования, имеющей существенное значение для 1.5.22. Клеточной биологии (медицинские науки). Диссертационная работа по своей актуальности, новизне, теоретической и практической

значимости, объему проведенных исследований полностью соответствует требованиям и. 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, Пугачева Екатерина Николаевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени по специальности -1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки).

По результатам исследования автором опубликовано 6 работ, общим объемом 1,6 печатных листа, в том числе 1 научная статья в изданиях из базы данных RSCI, 2 статьи в журнале, включенном 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; 1 статья в издании, индексируемом в международной базе (Scopus), 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Морфофункциональные особенности воспаления в яичнике после воздействия локального облучения электронами и введения плазмы, обогащённой тромбоцитами / Демяшкин Г.А., Муртазалиева З.М., **Пугачева Е.Н.**, Вадюхин М.А., Шукюрова М.М., Корякин С.Н., Проскурякова А.А. // **Морфология.** – 2023. – Т. 161. - №4. - С. 43-52. [RSCI], **оригинальная авторский вклад определяющий**
2. Оценка жизненного цикла в фолликулах яичников крыс после локального облучения электронами / **Е. Н. Пугачева**, З. М. Муртазалиева, Д.

И. Угурчиева // **Молодежный инновационный вестник**. – 2024. – Т. 13, № 2. – С. 106-107., **оригинальная авторский вклад определяющий**

3. Demyashkin G, Vadyukhin M, Murtazalieva Z, **Pugacheva E.**, et al./ Novel molecular mechanisms underlying the ameliorative effect of Platelet-rich plasma against electron radiation-induced premature ovarian failure. // **Int J Mol Sci**. 2024; 25(18):10115. [Scopus], **оригинальная авторский вклад определяющий.**

На автореферат диссертации поступили отзывы от: доктора медицинских наук, заведующего лабораторией патологии репродукции «НИИМЧ им. акад. А.П. Авцына», ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского», г. Москва – Низяевой Натальи Викторовны; доктора медицинских наук, доцента, директора научно-образовательного ресурсного центра «Инновационные технологии иммунофенотипирования, цифрового пространственного профилирования и ультраструктурного анализа», ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», г. Москва – Атякшина Дмитрия Андреевича;

Отзывы положительные, критических замечаний не содержат.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что оппоненты являются известными специалистами в данной области и имеют публикации по теме диссертации в рецензируемых журналах.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Воронеж выбран в качестве ведущей организации в связи с тем, что данное учреждение известно своими достижениями в области клеточной биологии и имеет ученых, являющихся безусловными специалистами по теме рассматриваемой диссертационной работы, а именно морфофункциональных изменений овофолликулогенеза при

преждевременной недостаточности яичника, индуцированной локальным облучением электронами, и при введении аскорбиновой кислоты.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

Предложено решение актуальной для медицины научной задачи гистологическому и молекулярно-биологическому исследованию структур яичника при локальном облучении электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр и протекторного действия аскорбиновой кислоты

– показано, что облучение электронами через три месяца приводит к снижению количества овариальных фолликулов на разных стадиях развития, истощению овариального резерва и появлению признаков радиационно-индуцированной преждевременной недостаточности яичников.

– продемонстрировано, что аскорбиновая кислота способствует сохранению гормонального статуса, поддерживая нормальные концентрации гонадотропных гормонов, показателя овариального резерва (антимюллера гормона) при локальном воздействии электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр.

– установлено, что предлучевое использование аскорбиновой кислоты сопровождается снижением оксидативного стресса и индукцией ферментов эндогенной антиоксидантной защиты в гомогенате яичников после локального воздействия электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр согласно уровням малонового диальдегида, супероксиддисмутазы и каталазы.

– доказано, что аскорбиновая кислота вносит вклад в предотвращение фрагментации ДНК, возникающей после локального воздействия электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр, что показано TUNEL-методом.

– установлено, что предлучевое введение аскорбиновой кислоты снижает апоптотическую гибель клеток гранулезного слоя (экспрессия

Caspase 3 ↓, *Caspase 8* ↓, *Caspase 9* ↓), индуцируя их пролиферативную активность (экспрессия *Ki-67* ↑) посредством модуляции сигнальных путей PI3K/АКТ/mTOR и PI3K/АКТ/FOXO3a, ответственных за сохранение овариального резерва. В то же время при локальном воздействии электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр активируется преимущественно внутренний путь апоптоза фолликулярных клеток.

– обнаружено, что аскорбиновая кислота способствует подавлению экспрессии ключевых участников воспалительной реакции (TNF-α, IL-1, IL-6, IL-10), а также снижению количества тучных клеток (преимущественно химаза-позитивного фенотипа), наблюдаемых после локального воздействия электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр на ранних сроках эксперимента. На третьем месяце аскорбиновая кислота приводит к увеличению экспрессии противовоспалительного IL-10 и преобладанию химаза-позитивного фенотипа тучных клеток, ограничивая воспалительную реакцию и фиброз в яичниках.

– показано антифибротическое действие аскорбиновой кислоты в отношении радиационно-индуцированного фиброза посредством ингибирования экспрессии участников TGF/SMAD-сигнального пути, активации фибробластов и клеток эндотелия кровеносных сосудов, что способствовало снижению накопления коллагена в экстрацеллюлярном пространстве яичника.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

получены данные о гистологических, молекулярно-биологических и молекулярно-генетических изменениях в овариальных фолликулах после локального воздействия электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр и их модуляции предлучевым введением аскорбиновой кислоты. Результатами проведенного исследования подтверждены радиопротекторные свойства этого субстрата, а именно – антиоксидантное, антиапоптотическое, противовоспалительное и антифибротическое действие при воздействии локального облучения

электронами, а также снижение рисков развития радиационно-индуцированной преждевременной недостаточности яичников и фиброза. Коэкспрессия α -SMA, TGF- β и Collagen-1 преимущественно в клетках фибробластического ряда и эндотелии кровеносных сосудов яичника является предиктором фиброгенеза.

Аскорбиновая кислота способна ингибировать оба взаимодополняющих пути лучевого повреждения – прямого (фрагментация ДНК и его эффекты, формирование токсичных свободных радикалов) и косвенного (реакции оксидативного стресса). Аскорбиновая кислота способна модулировать сигнальные пути PI3K/AKT/mTOR и PI3K/AKT/FOXO3a, ответственные за сохранение овариального резерва и регуляцию жизненного цикла клеток гранулезного слоя, а также активатор фиброгенеза – путь TGF/SMAD. Аскорбиновая кислота в отдаленные сроки после облучения приводит к продукции тучными клетками химазы, разрушающей компоненты экстрацеллюлярного матрикса, что предотвращает развитие фиброза. В то же время, максимальную активность эта протеаза проявляет при воздействии электронами на ранних сроках, вызывая деструкцию межклеточного вещества и распространение свободных радикалов, увеличивающих площадь лучевого повреждения. На поздних сроках после облучения происходит активация другого белка тучных клеток – триптазы, являющейся маркером фиброза.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные результаты о степени лучевых повреждений овариальных фолликулов после фракционного локального облучения электронами в суммарной дозе 30 Гр, а также возможности медикаментозной радиопротекции овариального резерва предлучевым введением аскорбиновой кислоты необходимо учитывать при назначении электронотерапии злокачественных новообразований органов малого таза и брюшной полости врачами-радиотерапевтами и врачами-онкологами. Кроме того, в радиобиологической, онкологической и

гинекологической практике при назначении электронотерапии следует учитывать дозозависимое развитие фиброза, радиационно-индуцированной преждевременной недостаточности яичников с целью возможной ее протекции, а морфологическая оценка постлучевого состояния овариальных фолликулов, в том числе – в отдаленные сроки после воздействия электронами, может быть использована в работе врача-патологоанатома.

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 №504 от 23.09.2024 г.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

Идея базируется на обобщении передового опыта, анализе доступной научной и патентной информации об особенностях морфофункциональных изменениях овофолликулогенеза при преждевременной недостаточности яичника, индуцированной локальным облучением электронами, и при предлучевым введением аскорбиновой кислоты.

Теория основана на полученных данных в результате проведенного исследования с использованием гистологического, морфометрического, гистохимического (трихромом по Массону), иммуногистохимического (α -SMA, TGF- β , Coll-1, TUNEL-метод), молекулярно-генетического (маркеры PI3K/АКТ/mTOR, PI3K/АКТ/FOXO3, TGF/SMAD сигнальных путей; маркеры жизненного цикла – Ki-67, caspase 3, caspase 8, caspase 9) исследований,

иммуноферментного анализа (малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза).

Проведено сопоставление авторских и литературных (зарубежных и отечественных) данных, полученных ранее по изучаемой проблематике.

Использованы современные методики сбора и анализа материала с применением различных методов исследования и статистической обработкой данных. Достоверность результатов диссертационной работы не вызывает сомнений, обусловлена достаточным объемом исследования, разработанных критериев включения и исключения, в результате чего были сформированы группы с однородной выборкой – самки крыс породы Вистар (вес 180 ± 20 грамм; возраст 9 – 10 недель; $n=180$).

Личный вклад соискателя заключается в следующем:

Автор самостоятельно выполнил основные этапы диссертационной работы: постановка цели и определение задач, дизайна и выбор методов клеточной биологии, анализ и статистическая обработка полученных результатов, обоснование научной новизны, теоретической и практической значимости, основных положений и выводов. Автор лично выполнял гистологическое, морфометрическое, гистохимическое (трихромом по Массону), иммуногистохимическое (α -SMA, TGF- β , Coll-1, TUNEL-метод), молекулярно-генетическое (маркеры PI3K/AKT/mTOR, PI3K/AKT/FOXO3, TGF/SMAD сигнальных путей; маркеры жизненного цикла – Ki-67, caspase 3, caspase 8, caspase 9) исследования, иммуноферментный анализ (малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза). Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме диссертационной работы.

Диссертация не содержит недостоверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации и 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)», утвержденным приказом ректора от 06.06.2022 г. №0692/Р (с изменениями, утвержденными приказом ректора №1179 от 29.08.2023 г., приказом № 0787/Р от 24 мая 2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям.

В ходе защиты диссертации оппонент Асатурова Александра Вячеславовна в рамках научной дискуссии подняла вопрос о роли тучных клеток химаза-позитивного фенотипа в модуляции фиброгенеза после облучения электронами. На вопрос Пугачева Е.Н. дала исчерпывающий ответ, полностью удовлетворивший оппонента.

В ходе защиты диссертации оппонент Карев Вадим Евгеньевич в рамках научной дискуссии задал вопрос о вероятных механизмах межклеточных взаимодействий клеток паренхимы и стромы яичника, которые реализуются в условиях облучения электронами. На вопрос Пугачева Е.Н. дала исчерпывающий ответ, полностью удовлетворивший оппонента.

На заседании 15 сентября 2025 года диссертационный совет принял решение: за решение научной задачи по выявлению радиопротекторного действия аскорбиновой кислоты в отношении овариальных фолликулов при радиационно-индуцированной преждевременной недостаточности яичников, вызванной воздействием электронами в режиме фракционирования, что имеет важное значение для специальности 1.5.22. Клеточная биология присвоить Пугачевой Екатерине Николаевне ученую степень кандидата медицинских наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, присутствовавших на заседании из них 5 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, из 19 человек, входящих в состав совета, утвержденного приказом ректора, проголосовали:

за присуждение ученой степени - 13, против присуждения ученой степени – нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета

Ученый секретарь
диссертационного совета



Дыдыкин Сергей Сергеевич

Блинова Екатерина Валериевна

«17» сентября 2025 года