

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, Карева Вадима Евгеньевича, доктора медицинских наук на диссертационную работу Якименко Владислава Андреевича на тему «Структурно-функциональная характеристика печени после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.22. Клеточная биология

### **Актуальность избранной темы**

Лучевые методы терапии на сегодняшний день являются неотъемлемой частью лечения злокачественных новообразований, однако развитие прогнозируемых осложнений такого лечения, в частности, развитие лучевого гепатита, проявляющегося в закономерном развитии типовых патологических процессов, зачастую приводящих к острой печёночной недостаточности или к формированию постлучевого фиброза печени является нерешенной проблемой. Существующие методы профилактики подобных осложнений инвалидного лечения не всегда оказываются эффективными.

В этой связи, изучение процессов повреждения и регенераторной пролиферации гепатоцитов, механизмов реализации патологического фиброгенеза вследствие активации непаренхиматозных клеток печени является крайне актуальным, а результаты таких исследований могут явиться научным обоснованием для разработки новых методов профилактики и лечения лучевого повреждения печени. Кроме того, исходя из типового характера патологических изменений, формирующихся при естественном течении хронических диффузных заболеваний печени, включающих процессы повреждения, регенераторной пролиферации и патологического фиброгенеза, результаты, полученные в ходе исследований такого рода могут быть использованы для дальнейшего изучения указанных процессов при широком спектре нозологических форм.

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

Автором самостоятельно выполнены все этапы диссертационного исследования: постановка цели и задач, подбор методов, получение, анализ и статистическая обработка результатов, формулирование основных положений и выводов, теоретической и практической значимости, включая новизну полученных

результатов, отбор и анализ литературы по теме исследования, разработан его дизайн, сформирована база данных и цифровой архив изображений, выполнена обработка полученных данных с использованием современных методов клеточной биологии, гистологическое, морфометрическое, гистохимическое, иммуногистохимическое исследования, мультиплексную иммунофлуоресцентную микроскопию, иммуноферментный анализ, а также статистический анализ полученных результатов. Диссертантом в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме диссертационной работы.

Достоверность полученных в ходе выполнения диссертационного исследования данных не вызывает сомнений, автором использован достаточное количество экспериментальных животных (180 животных - самцов крыс породы Вистар) и широкий спектр гистологических и гистоморфометрических, гистохимический, иммуногистохимический и иммуногистоморфометрический методы, иммунофлюоресцентный метод с визуализацией при конфокальной микроскопии, а также биохимический и иммуноферментный методы, достаточные для решения сформулированных задач и достижения цели исследования. Применены современные гистоморфометрические и иммуногистоморфометрические методики, позволившие объективизировать полученные морфологические данные с последующей статистической обработкой.

Комплексный подход к изучению морфологических изменений печени, позволил автору осуществить объективную оценку процессов повреждения (экспрессия Caspase 3 гепатоцитами и выявление гепатоцитов с деградацией ДНК методом TUNEL, параклинические маркеры повреждения печени) и регенераторной пролиферации гепатоцитов (по экспрессии Ki-67), объективировать процессы патологического фиброгенеза путем определения иммунофенотипа непаренхиматозных клеток печени (экспрессия SMA-alfa активированными звездчатыми клетками) и коэкспрессии ими регуляторных профиброгенных факторов (TGF-beta).

Таким образом, выбранные методические подходы соответствуют поставленным цели и задачам диссертационного исследования и позволяют автору

сформулировать основные научные положения и выводы, объективность и достоверность которых сомнений не вызывают.

#### **Достоверность и новизна исследования и полученных результатов**

Впервые, на основании проведенного морфологического анализа определены степень постлучевых повреждений гепатоцитов, диапазон токсических эффектов, их адаптационная способность после локального облучения электронами в режиме фракционирования в СОД 30 Гр, согласно разработанной автором шкале морфологических изменений печени

Впервые показано, что в ответ на локальное облучения печени электронами в СОД 30 Гр происходит повышение уровней интерлейкина-1, интерлейкина-6 и интерлейкина-10 как в системном кровотоке, так и в ткани печени, при этом высокие концентрации цитокинов сохраняются локально в течение длительного периода времени, что приводит к активации фиброза и усилению печеночной недостаточности, проявляющейся повышением уровней аспартатаминотрансферазы, аланинаминотрансферазы, щелочной фосфатазы и общего билирубина.

Впервые показано, что локальное воздействие электронами на структуры печени в режиме фракционирования в СОД 30 Гр сопровождается повышением уровня малонового диальдегида и понижением концентрации супероксиддисмутазы, преимущественно на ранних сроках эксперимента.

Впервые выявлено уменьшение количества пролиферирующих (Ki-67↓) при одновременном увеличении доли апоптотических (каспаза 3↑) гепатоцитов, сопровождающееся повышением уровней экспрессии генов Bax, Bcl-2, и Caspase 3 на ранних сроках после локального облучения электронами в режиме фракционирования в СОД 30 Гр с последующим частичным восстановлением этих параметров к третьему месяцу эксперимента.

Впервые доказано, что локальное воздействие электронов в СОД 30 Гр приводит к резкому увеличению количества флуоресцирующих локусов фрагментации ДНК, показанное TUNEL-методом в ранний период и полное восстановление TUNEL-сигналинга через два месяца.

Впервые показано, что локальное облучение электронами печени в режиме фракционирования (СОД 30 Гр) характеризуется повышением концентрации ключевых участников иммунной реакции – цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-6, TNF- $\alpha$ , ИЛ-10) на системном уровне – транзиторно, а на местном – на протяжении всего времени наблюдения.

Впервые установлены маркеры-предикторы для раннего выявления в печени отсроченных осложнений лучевой терапии, таких как радиационно-индуцированный фиброз: коэкспрессия  $\alpha$ -SMA и TGF- $\beta$  указывает на активацию механизма фиброобразования. Выявлены функциональные особенности клеток Ито и других непаренхиматозных клеток.

Впервые доказаны радиопротективные свойства аскорбиновой кислоты в отношении структур печени, прежде всего – гепатоцитов, обеспечивающее поддержание локального внутрипеченочного гомеостаза (при сравнении с фармакологическими эффектами амифостина) за счет ее антиоксидантной активности, проявляющейся балансом редокс-системы и субнормальных уровней маркеров этапов жизненного цикла гепатоцитов, снижением степени воспалительной реакции и фиброобразования.

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

Автором получены новые сведения и существенно дополнены имеющиеся данные о сущностных, определяющих морфологические изменения, патологических процессах (повреждение, регенераторная пролиферация, патологический фиброгенез печени) в печени вследствие фракционного локального облучения электронами в суммарной очаговой дозе 30 Гр. Автором разработана и предложена шкала морфологических изменений печени, которую можно использовать при диагностике гепатитов различной этиологии. Результаты исследований могут явиться научным обоснованием для разработки новых методов профилактики и лечения лучевого повреждения печени. Практический вклад работы заключается в получении новых данных об изменениях в структуре и функции печени после локального облучения электронами в режиме фракционирования в 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. Результаты могут быть использованы в разработке методов профилактики постлучевых осложнений органов брюшной полости и клинических рекомендаций для врачей-патологоанатомов, врачей-радиотерапевтов, онкологов и врачей других смежных специальностей.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертация на тему «Структурно-функциональная характеристика печени после фракционного 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.

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

Результаты, полученные в настоящем исследовании нашли отражение в публикациях отечественных и зарубежных журналах.

По результатам исследования автором опубликовано 7 работ, в том числе 4 научных статьи 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; 1 статья в изданиях, индексируемых в международных базах (Scopus), 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций.

#### **Оценка содержания работы, ее завершенности в целом**

Диссертация выполнена в классическом стиле, состоит из введения, обзора литературы, главы, содержащей сведения о материале и методах исследования, главы, содержащей результаты собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, и списка использованной литературы. Работа изложена на 131 странице, иллюстрирована 42

рисунками хорошего качества, в том числе информативными графиками и изображениями микроскопических гистологических и иммуногистохимических препаратов хорошего качества, содержит 6 таблиц, суммирующих полученные данные. Список цитируемой литературы составляет 179 источников, в том числе 20 отечественных и 159 зарубежных, опубликованных за последние несколько лет.

Во введении автором обоснована актуальность комплексного морфологического изучения патологических изменений печени после локального облучения электронами в режиме фракционирования в СОД 30 Гр и эффективности использования препарата аскорбиновой кислоты с целью снижения выраженности морфофункциональных изменений печени.

В обзоре литературы автором представлены подробные сведения об методах лучевой терапии, рассмотрены аспекты лучевого поражения печени, 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 изложены результаты комплексной оценки радиационно- индуцированного повреждения печени после локального облучения электронами в суммарной дозе 30 Гр, включая описание молекулярно-биологических механизмов патогенеза ранних и отсроченных осложнений.

В главах «Обсуждение результатов» и «Заключение» осуществлено обобщение полученных результатов в сравнении с данными, полученными другими исследователями.

Методы исследования современны и адекватны поставленным задачам.

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

Таким образом, диссертационная работа Якименко Владислава Андреевича 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**

Диссертация В.А. Якименко не вызвала принципиальных замечаний.

В ходе изучения диссертационной работы возникли следующие вопросы:

1) Как Вами расценивается коэкспрессия  $\alpha$ -SMA и TGF- $\beta$  активированными звездчатыми клетками печени, какую роль, по Вашему мнению, в реализации обнаруженных гистологических изменений со стороны волокнистого компонента (патологического фиброгенеза) в печени играют клетки Купфера?

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, диссертационная работа Якименко Владислава Андреевича на тему: «Структурно-функциональная характеристика печени после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи современной медицинской науки – выявлены структурные и функциональные изменения структур печени, раскрыты механизмы регуляции местного внутрипеченочного гомеостаза в условиях радиационно-индуцированного поражения, вызванного локальным воздействием электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр и влияния аскорбиновой

кислоты, имеющей существенное значение для 1.5.22. Клеточная биология (медицинской науки).

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов представленная диссертация 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.

**Официальный оппонент:**

Заведующий научно-исследовательским  
отделом патоморфологии ФГБУ ФНКЦИБ ФМБА России,  
доктор медицинских наук  
(3.1.22. Инфекционные болезни,  
3.3.2. Патологическая анатомия)



Карев Вадим Евгеньевич

Дата 28 апреля 2025

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ФНКЦИБ ФМБА России). Адрес: 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9. Тел.: +7(812)234-9691; <http://niidi.ru/> E-mail: [niidi@niidi.ru](mailto:niidi@niidi.ru)

Подпись д.м.н. В.Е. Карева заверяю:

Учёный секретарь  
ФГБУ ФНКЦИБ ФМБА, к.м.н., доцент



В.М. Волжанин