

ОТЗЫВ

официального оппонента, Асатуровой Александры Вячеславовны, доктора медицинских наук, заведующего 1-м патолого-анатомическим отделением ФГБУ «НМИЦ АГП им.В.И. Кулакова» Минздрава России на диссертационную работу Пугачевой Екатерины Николаевны на тему «Морфологические особенности овофолликулогенеза 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

Структуры яичника обладают высокой чувствительностью ко всем видам ионизирующего излучения, приводя к уменьшению основных критериев овариального резерва и развитию преждевременной овариальной недостаточности. Это требует оптимизации схем радиотерапии злокачественных новообразований органов малого таза, например активным внедрением в практику локального облучения электронами. Особенно это актуально сегодня, когда в онкогинекологии активно внедряются интраоперационная лучевая терапия и трансартериальная эмболизация.

Другой целью современной радиобиологии и онкологии это разработка и усовершенствование радиопротекторов различного происхождения, направленных на снижение лучевой нагрузки, снижение рисков для преждевременной овариальной недостаточности.

Несмотря на изученность большинства признаков, указывающих на антиоксидантные свойства аскорбиновой кислоты, по-прежнему остаются неизвестными молекулярные механизмы ее действия, регулирующие влияние на редокс-гомеостаз, репарацию ДНК, жизненный цикл фолликулярных клеток, воспалительную реакцию и сигнальные пути, ответственные за овофолликулогенез и фиброзирование в условиях электронотерапии.

На основании вышеизложенного, проведение данного комплексного исследования с использованием гистологических и молекулярно-

биологических методов весьма своевременно, актуально и обладает практической значимостью.

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

Автором проведены ключевые этапы представленной диссертационной работы: постановка цели и определение задач, дизайна и методов клеточной биологии, анализ и статистическая обработка полученных результатов, обоснование научной новизны, теоретической и практической значимости, основных положений и выводов. В ходе проведения реализованы гистологический, гистохимический (трихромом по Массону), иммуногистохимический (α -SMA, TGF- β , Coll-1, TUNEL), молекулярно-генетический (*Ki-67*, *caspase 3*, *caspase 8*, *caspase 9*; PI3K/AKT/mTOR, PI3K/AKT/FOXO3a, TGF/SMAD сигнальные пути;) методы, иммуноферментный анализ (малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза). Автором в соавторстве подготовлены к печати публикации по теме диссертационной работы.

Достоверность и новизна исследования и полученных результатов

Достоверность полученных в ходе выполнения диссертационного исследования результатов, в том числе с применением методов статистического анализа (как наиболее эффективные, чаще всего используемые в медицине), не вызывает сомнений. Группы подобраны адекватно и соразмерно – самки крыс породы Вистар (вес 180 ± 20 грамм; возраст 9 – 10 недель; $n=180$).

Сформулированные положения и выводы также обоснованы и достоверны, сомнения не вызывают.

Автором впервые выявлено, что введение аскорбиновой кислоты приводит к его сохранению, поддерживая нормальные концентрации гонадотропных гормонов, показателя овариального резерва и эстрогении при локальном воздействии электронами в режиме фракционирования в СОД 30

Гр; предлучевое введение аскорбиновой кислоты сопровождается снижением степени оксидативного стресса и индукцией ферментов эндогенной антиоксидантной защиты в гомогенате яичников после локального воздействия электронами в режиме фракционирования в СОД 30 Гр согласно уровням MDA, SOD и CAT; аскорбиновая кислота частично препятствует фрагментации ДНК, возникающей после локального воздействия электронами в режиме фракционирования в СОД 30 Гр, что показано TUNEL-методом, а также снижает апоптотическую гибель структур яичника (экспрессия *Caspase 3*, *Caspase 8*, *Caspase 9*), индуцируя пролиферативную активность (экспрессия *Ki-67*) посредством модуляции сигнальных путей PI3K/AKT/mTOR и PI3K/AKT/FOXO3a, ответственных за сохранение овариального резерва и регуляцию жизненного цикла клеток гранулезного слоя. В то же время при локальном воздействии электронами в режиме фракционирования в суммарной очаговой дозе 30 Гр активируется преимущественно внутренний путь апоптоза. 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 активации экспрессии противовоспалительного IL-10 и преобладанию химаза-позитивного фенотипа тучных клеток, ограничивая воспалительную реакцию и фиброз в яичниках. Автором также 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.

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором

На основании полученных результатов диссертационного исследования автором подтверждены радиопротекторные свойства аскорбиновой кислоты – антиоксидантное, антиапоптотическое, противовоспалительное и антифибротическое действие в условиях экспериментальной электронотерапии, а также снижение рисков развития радиационно-индуцированной преждевременной овариальной недостаточности. Диссертантом показано, что коэкспрессия α -SMA, TGF- β и Collagen-1 преимущественно в клетках фибробластического ряда и эндотелии кровеносных сосудов яичника является предиктором фиброгенеза. Автор указывает, что аскорбиновая кислота способна ингибировать оба пути воздействия электронами; 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 –TGF/SMAD путь, а также приводит к продукции тучными клетками химазы, разрушающей компоненты экстрацеллюлярного матрикса, что предотвращает развитие фиброза.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные результаты о степени лучевых повреждений структур яичника после локального облучения электронами в режиме фракционирования СОД 30 Гр, а также возможности радиопротекции введением аскорбиновой кислоты необходимо учитывать при назначении электронотерапии злокачественных новообразований органов малого таза врачами-радиотерапевтами и врачами-онкологами, а также в работе врача-патологоанатома при дифференциальной диагностики лучевого патоморфоза.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация на тему «Морфологические особенности овофолликулогенеза 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 6 работ, 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.

Оценка содержания работы, ее завершенности в целом

Диссертационная работа представлена в классическом стиле (введение; обзор литературы; материалы и методы исследования; результаты собственных исследований; заключение, выводы; практические рекомендации; список источников). Работа изложена на 142 страницах, содержит 32 рисунка отличного качества, информативные графики и гистологических микропрепаратов, 24 таблицы, суммирующих полученные данные. Список цитируемой литературы составляет 189 источников, в том числе 23 отечественных и 166 зарубежных, опубликованных за последние несколько лет.

Введении посвящено актуальности проведения диссертационного исследования, необходимости комплексного морфологического анализа

патологических изменений яичника после фракционного воздействия электронами в СОД 30 Гр и эффективности введения аскорбиновой кислоты в качестве радиопротектора.

Обзор литературы автор посвятил подробному анализу отечественных и иностранных источников по обозначенной проблеме. В конце имеется заключение.

Вторая глава традиционно посвящена материалам и методам, которые представлены исчерпывающе.

В главе «Результаты собственных исследований», автор приводит убедительные доказательства развития преждевременной овариальной недостаточности после воздействия электронами в СОД 30 Гр и радиопротективного действия аскорбиновой кислоты, на основании гистологического, молекулярно-биологического и молекулярно-генетического анализа.

В главе «Заключение» Е.Н. Пугачева обсуждает полученные в ходе данной диссертационной работы результаты в сравнении с аналогичными исследованиями других авторов, проводя критическую оценку.

Таким образом, диссертационная работа Пугачевой Екатерины Николаевны является законченным научным исследованием, выполненным ей 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 тексту диссертации, отражает результаты исследования, доказывающие положения, выносимые на защиту. Здесь представлены рисунки и таблицы, важнейшие результаты статистического анализа.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Диссертация Е.Н. Пугачевой не вызвала принципиальных замечаний. В ходе изучения диссертационной работы возник следующий вопрос:

1) Учитывая выявленную в исследовании коэкспрессию α -SMA и TGF- β в клетках фибробластического ряда и эндотелии сосудов яичника, какую роль, по вашему мнению, играют тучные клетки химаза-позитивного фенотипа в модуляции фиброгенеза после локального облучения электронами? Каковы потенциальные механизмы взаимодействия этих клеток с сигнальным путем TGF- β /SMAD в контексте антифибротического действия аскорбиновой кислоты?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

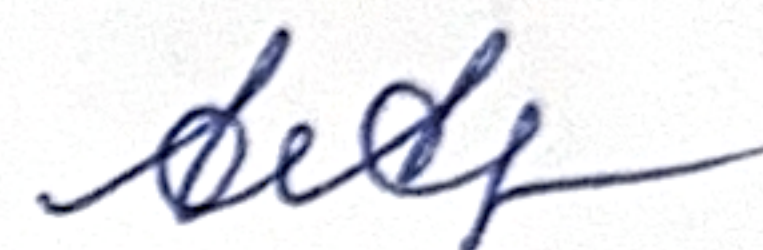
Таким образом, диссертационная работа Пугачевой Екатерины Николаевны на тему: «Морфологические особенности овофолликулогенеза после фракционного локального облучения электронами и на фоне введения аскорбиновой кислоты» на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи современной медицинской науки – 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. Клеточная биология (медицинские 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, Пугачева Екатерина Николаевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности – 1.5.22. Клеточная биология.

Официальный оппонент:

Заведующий 1-м патолого-анатомическим отделением
ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова»
Минздрава России,
доктор медицинских наук
(3.3.2. Патологическая анатомия)



Асатунова Александра Вячеславовна

Дата 23.07.2025

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России). Адрес: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4. Тел.: +7(495)531-4444; <https://ncagp.ru/> E-mail: Secretariat@oparina4.ru

Подпись д.м.н. А.В. Асатуровой заверяю:
Заместитель директора ФГБУ «НМИЦ
АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава
России по научной работе
Д.м.н., профессор



Н.Е. Кан