

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук Сидорова Сергея Павловича на диссертацию Вакуненко Ольги Александровны «Экспериментальное обоснование выбора средств профилактики гастроэнтеротоксических эффектов миелоабляционных воздействий», представленную к публичной защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.4. Токсикология

Актуальность темы диссертационного исследования О. А. Вакуненко обусловлена критической ролью гастроэнтеральной дисфункции в исходах трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Миелоабляционное кондиционирование — обязательный компонент предтрансплантационной подготовки — инициирует каскад повреждения слизистой оболочки, приводящий к развитию острого мукозита и функциональному парезу кишечника. Нарушение моторно-эвакуаторной функции имеет далеко идущие последствия: замедление пассажа химуса сопровождается утратой естественного клиренса микробиоты, формированием синдрома избыточного бактериального роста и массивной продукцией эндотоксинов. Развивающаяся вторичная эндотоксемия провоцирует системный воспалительный ответ, превращающий гастроэнтеральную дисфункцию из локального осложнения в один из главных факторов летальности в перитрансплантационном периоде.

Однако в современной клинической практике гастроэнтеральный стаз все еще рассматривается как сопутствующий симптомокомплекс, хотя его прогностическое значение и влияние на выживаемость пациентов требуют его перекалфикации в статус независимого модифицируемого фактора риска. Это обуславливает необходимость разработки объективных критериев скрининга и валидации подходов к профилактике гастроэнтеротоксичности миелоабляционной подготовки.

Исследование О. А. Вакуненко сфокусировано на уточнении патофизиологических механизмов кишечной дисфункции при миелоабляции и разработке методологического аппарата для поиска эффективных средств коррекции. Особое внимание уделено восстановлению моторно-эвакуаторной функции как центрального звена в регуляции микробиоценоза и предупреждении последующей

эндотоксемии. Успешная реализация этих подходов позволит оптимизировать протоколы клеточной терапии и существенно повысить показатели выживаемости реципиентов.

Научная новизна полученных результатов. Диссертационная работа О.А. Вакуненко представляет собой исследование, в котором впервые проведено комплексное изучение подходов к профилактике гастроэнтеротоксических эффектов миелоабляционных воздействий с использованием экспериментального моделирования и фармакологического скрининга.

Разработаны и валидированы экспериментальные модели миелоабляционных воздействий, позволяющие адекватно моделировать развитие гастроэнтеротоксических осложнений. Автором определены критические параметры воздействий — дозовые зависимости изменения массы тела, сроков гибели и летальности животных, выявлены супралетальные дозы, при которых животные переживали период, соответствующий подготовке реципиента к трансплантации стволовых кроветворных клеток, и латентный период манифестации кишечного синдрома.

Обоснованы и внедрены в практику параметры скрининга потенциальных энтеропротекторов — суточная экскреция индикана с мочой, отражающая поток эндогенного метаболита бактериального происхождения (индола) в портальную кровь, и относительная масса желудочного химуса, характеризующая защитную реакцию млекопитающих на повреждение тонкой кишки.

Впервые научно обоснована эффективность перорального назначения гидрокарбоната натрия как экстренной профилактической меры против гастростаза при миелоабляционной химиотерапии циклофосфамидом, что создает предпосылки для последующей медикаментозной коррекции острого цитостатического мукозита.

Впервые установлена перспективность цистамина дигидрохлорида при внутрижелудочном введении в качестве селективного средства экстренной профилактики гастростаза при лучевом миелоабляционном воздействии и выявлена целесообразность его апробации на крупных животных с целью подготовки к клиническому применению.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования. Представленная работа имеет выраженную фундаментальную направленность,

поскольку проведение миелоаблативных режимов кондиционирования перед трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток с применением только циклофосфида или только тотального облучения тела в современной клинической практике имеет специфические, ограниченные показания.

Совокупность полученных результатов представляет собой значительный вклад в экспериментальную токсикологию миелоабляционных воздействий, обеспечивая теоретическую и методологическую базу для дальнейшего развития стратегий профилактики и коррекции гастроэнтеротоксических осложнений.

Одним из наиболее важных имеющих практическое значение результатов, полученных соискателем, является впервые установленная эффективность перорального назначения гидрокарбоната натрия для профилактики гастростаза, вызванного миелоабляционными режимами кондиционирования циклофосфидом. Данный подход к фармакологической коррекции может быть востребован в клинической практике, поскольку создаёт условия для последующего перорального назначения пациентам медикаментозных средств лечения острого цитостатического мукозита ЖКТ и, следовательно, способен повышать качество жизни.

Структура, содержание и оформление диссертации. Диссертационная работа изложена на 181 странице машинописного текста, иллюстрирована 8 таблицами и 54 рисунками. Работа имеет традиционную структуру и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, а также выводов, списка литературы и приложения. В списке использованной литературы представлены 66 отечественных и 157 зарубежных источников.

ВВЕДЕНИЕ раскрывает актуальность темы и значимость выбранной проблематики. Сформулированы цели и задачи исследования, определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, личный вклад автора в проведённое исследование, а также структура и объём диссертации.

ГЛАВА 1 посвящена рассмотрению и анализу отечественных и зарубежных литературных данных в контексте рассматриваемой проблемы. На основании

результатов анализа литературы автор формулирует гипотезу, которая определяет целевую установку исследования.

ГЛАВА 2 описывает материалы и методы диссертационного исследования. В начале главы внимание уделено условиям содержания лабораторных животных, описаны химические реактивы, медикаментозные средства, которые использовались в работе. Для решения задач исследования и проверки выдвинутых гипотез автор использовал совокупность токсикологических, радиобиологических, гематологических, лабораторных, аналитических, инструментальных, биохимических, патоморфологических и статистических методик. Выбранные для исследования материалы и методы соответствуют уровню профессиональной подготовки автора. Используемая методологическая база обеспечивает доказательность полученных данных, а высокая степень детализации всех этапов гарантирует возможность их воспроизведения другими исследователями.

ГЛАВА 3 посвящена описанию результатов разработки экспериментальных моделей миелоабляционных воздействий и методов скрининга средств профилактики гастроэнтеротоксических эффектов.

ГЛАВА 4 представляет результаты экспериментального исследования влияния потенциальных энтеропротекторов на параметры пропульсивной активности желудка и тонкой кишки при миелоабляционных воздействиях.

ГЛАВА 5 посвящена экспериментальному анализу влияния перспективных энтеропротекторов на проявления острой кишечной эндотоксемии, вызванной миелоабляционными воздействиями.

ГЛАВА 6 состоит из описания результатов изучения особенностей влияния перспективных энтеропротекторов на состояние слизистой оболочки желудка и тонкой кишки после миелоабляционных воздействий.

ГЛАВА 7 содержит результаты изучения влияния перспективных энтеропротекторов на функциональное состояние организма после миелоабляционных воздействий.

В **заключении** автор подводит итоги исследования, обсуждает полученные экспериментальные данные с позиций современных знаний о патогенезе гастроэнтеротоксических эффектов миелоабляционных воздействий и способах их профилактики. Проведенный анализ позволил автору провести чёткие параллели

между данными литературы и результатами собственных исследований, которые послужили весомыми аргументами в обосновании положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в конце работы. В целом, содержание заключения свидетельствует о том, что автор критически осмыслил и адекватно интерпретировал научные теоретические данные и практические результаты, а также нашел взаимосвязь между ними.

Выводы и практические рекомендации основываются на результатах исследования, обоснованы, аргументированы и согласуются с поставленными целью, задачами и положениями, выносимыми на защиту.

Автор продемонстрировал способность работать с обширным массивом литературы, охватывающим как фундаментальные исторические источники, так и новейшие научные публикации. Список литературы состоит из 223 источников, том числе 66 отечественных и 157 зарубежных источников по направлению исследования.

Диссертация хорошо иллюстрирована. Работа написана в достаточно хорошем академическом стиле, хотя не лишена существенных лексических, стилистических и композиционных недостатков, которые, тем не менее, не являются принципиальными и не снижают ценность научной работы. В конце каждого раздела автор проводит детальное обсуждение полученных результатов и сопоставляет их с данными литературы, объясняя суть каждого показателя.

Соответствие автореферата содержанию диссертации. Автореферат диссертации Вакуненко Ольги Александровны «Экспериментальное обоснование выбора средств профилактики гастроэнтеротоксических эффектов миелоабляционных воздействий» изложен на 26 страницах, оформлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р 7.0.11 — 2011, отражает основное содержание диссертации, содержит сведения об актуальности изучаемой проблемы, научной новизне, теоретической и практической значимости работы, методологии и методах исследования, основных результатов с их обсуждением, выводы, практические рекомендации и список работ, опубликованных автором по теме диссертационного исследования.

При ознакомлении с диссертацией и авторефератом возникли следующие замечания и вопросы.

Замечания по диссертационной работе:

1. Вызывает методологические возражения экстраполяция парадигмы «функциональное состояние организма» (ФС) на объект исследования — лабораторные животные. Традиционно концепция ФС рассматривается в контексте психофизиологии труда, медицины профессиональных болезней, спортивной медицины, где она служит для оценки работоспособности, уровня адаптации и готовности человека к выполнению целенаправленной деятельности. Применение данного подхода в рамках доклинического исследования миелоабляционных воздействий представляется недостаточно обоснованным по следующим причинам:

- категориальное несоответствие. ФС по определению описывает диапазон приспособления живой системы. Это динамический ответ в рамках гомеостаза или обратимого стресса. В диссертации же автор под термином «ФС» фактически описывает патологические состояния, вызванные супралетальными миелоабляционными воздействиями, что подменяет нозологический подход функциональным. Следовательно, применение парадигмы ФС для описания состояний, находящихся за пределами физиологической нормы и адаптационного потенциала, искажает биологическую сущность исследуемых явлений;

- методологическая эклектичность. Сформированный автором набор критериев (летальность, масса тела, параметры газообмена и спонтанная двигательная активность) носит фрагментарный характер. Данные показатели не имеют единой патогенетической связи в контексте теории систем, что не позволяет квалифицировать их совокупность как интегральный показатель «состояния». В частности, включение летальности в перечень параметров ФС логически противоречит самой сути концепции функционального статуса живой системы.

2. Предложенная автором интерпретация динамики массы химуса (стр. 102–107) сфокусирована преимущественно на изменениях пропульсивной активности желудка и тонкой кишки, что представляется методически упрощённым. Количественные характеристики кишечного содержимого являются производным интегрального взаимодействия моторной, секреторной и абсорбционной функций ЖКТ.

3. Представляется дискуссионным тезис о возможности использования активности ацетилхолинэстеразы (АХЭ), определяемой в гомогенатах ткани кишечника, в качестве количественного маркера энтероцитов. Поскольку фермент локализован главным образом в мышечной оболочке и интрамуральных нервных сплетениях (Ауэрбаха и Мейснера), исследование гомогенатов кишки без выделения эпителиоцитов не позволяет дифференцировать их вклад в общие показатели. Традиционно активность АХЭ в биоптатах кишки рассматривается как маркер патологии, однако этот маркер отражает степень дисфункции холинергических нервных волокон, а не характеристики пула энтероцитов. В контексте рецензируемой работы результаты измерения активности АХЭ было бы более рационально представить в разделе, посвящённом влиянию энтеропротекторов на изменения пропульсивной активности желудка и тонкой кишки, соотнеся их с патогенезом дискинезии желудка и тонкой кишки, а не с морфологической сохранностью эпителия.

4. Несмотря на заявленное во всех аннотациях к микропрепаратам тонкой кишки увеличение $\times 200$, визуально легко обнаружить различия масштабирования снимков (одни существенно больше, другие — меньше). Кроме того, обозначение очаговой лимфо-макрофагальной инфильтрации в слизистой оболочке кишки на снимках с малым разрешением представляется необоснованным, поскольку при данном уровне детализации морфологическая идентификация клеточных элементов невозможна.

5. В современной аналитической химии метод хромато-масс-спектрометрии признан «золотым стандартом», обеспечивающим чувствительность на уровне пико- и нанограмм. Несмотря на это, автор при обосновании выбора биомаркеров гастроэнтеротоксичности характеризует данный метод как дорогостоящий и требующий сложной пробоподготовки, делая вывод о его малопригодности для скрининга лекарственных средств (с. 30). Исключение цитруллина из перечня перспективных показателей повреждения слизистой оболочки кишечника на основании «недостаточной доступности метода определения (хромато-масс-спектрометрия)» (с. 26) представляется слабо аргументированным. Кроме того, данный тезис вступает в явное противоречие с разделом диссертационного исследования, в котором количественное определение лактулозы и маннитола в

плазме крови успешно реализовано именно с применением хромато-масс-спектрометрии.

Отдельно озвучу **замечания по формулировкам положений, выносимым на защиту:**

1. Первое положение в предложенной редакции представляется тривиальным. Описание таких патогенетических феноменов, как мукозит, стаз и эндотоксемия при миелоабляционных воздействиях, относится к разряду общеизвестных фактов. Попытка автора обосновать новизну через «пригодность моделей для скрининга» не устраняет противоречие, так как не содержит конкретных характеристик оригинальности методического подхода.

2. Второе положение характеризуется следующими недостатками:

- формулировка методологически некорректна в части использования терминов «специфичность» и «чувствительность». Данные категории являются строгими операциональными понятиями, требующими соответствующего математико-статистического обоснования (в частности, применения ROC-анализа или таблиц сопряжения), что не было предусмотрено дизайном и статистическим аппаратом исследования;

- недостаточно обоснована целесообразность акцента на «экспресс-методах» (как совокупности способов, ориентированных на минимизацию временных затрат) в практике доклинических исследований гастроэнтеротоксичности миелоабляционных воздействий. В частности, в «Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (под ред. А. Н. Миронова, 2012) применение экспресс-методик практически не рассматривается;

- дефиниция «скоростной метод экспресс-оценки» содержит лексическую избыточность (плеоназм).

3. Перечисление в третьем положении разнородных показателей (гибель, газообмен, двигательная активность) без указания их патогенетической связи делает формулировку фрагментарной. Для положения, выносимого на защиту, требуется более системное и обобщающее суждение.

4. Утверждение о защитном действии препаратов «на желудочно-кишечный тракт... избирательным в отношении желудочно-кишечного тракта» в четвёртом положении содержит явный плеоназм.

Высказанные замечания не снижают общей высокой оценки представленной работы, которая является завершённым самостоятельным научным исследованием, обладающим признаками научной новизны и практической значимости.

Вопросы по диссертационной работе:

1. Поясните логику включения данных о весовом индексе селезёнки в раздел, описывающий состояние пропульсивной функции желудка и тонкой кишки (с. 102–107). Рассматриваете ли Вы взаимосвязь между выраженностью желудочно-кишечного стаза и изменениями массы селезёнки как патогенетически значимую?

2. Уточните параметры пищевой депривации, применявшейся при моделировании миелоабляционных воздействий (стр. 56). Рассматривалось ли голодание исключительно как инструмент стандартизации оцениваемых показателей?

3. Методология статистической обработки данных вызывает возражения в части выбора групп сравнения. Судя по подрисовочным подписям (с. 108, 110, 112–118, 121, 122), анализ результатов ограничивался сопоставлением показателей опытных групп исключительно с интактным контролем. Прямое сравнение данных с изолированным миелоабляционным воздействием и с применением средств фармакологической коррекции автором не проводилось. Неясно, чем обусловлен такой дизайн исследования и насколько он позволяет статистически верифицировать наличие и выраженность протективного эффекта изучаемых препаратов.

4. Какова доля применения миелоаблятивных режимов кондиционирования, основанных на нефракционированной высокодозовой циклофосамидной монотерапии или нефракционированном тотальном облучении тела, в структуре современных протоколов трансплантации гемопоэтических стволовых клеток?

Заключение. Диссертационная работа Вакуненко Ольги Александровны на тему «Экспериментальное обоснование выбора средств профилактики гастроэнтеротоксических эффектов миелоабляционных воздействий», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.4. Токсикология, является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена актуальная задача для токсикологии по экспериментальному

обоснованию выбора медикаментозных средств профилактики острой гастроэнтеротоксичности миелоабляционных агентов.

По своей актуальности, новизне полученных результатов, объёму выполненных исследований, методическому уровню, теоретической и научно-практической ценности диссертационной работы соответствует критериям пунктов 9–14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановлений Правительства Российской Федерации от 16.10.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Вакуненко О. А. достойна присуждения искомой степени по специальности 3.3.4. Токсикология (биологические науки).

Официальный оппонент:

Начальник 22 научно-исследовательского испытательного отдела научно-исследовательского испытательного центра (медико-биологической защиты) ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, доктор медицинских наук (3.3.4. Токсикология, 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология)

Сидоров Сергей Павлович

Подпись доктора медицинских наук Сидорова Сергея Павловича заверяю.

Заместитель начальника ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации



О.Чубарь

«29» 01 2026 г.

М.П.

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации

Адрес организации: 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4
Адрес электронной почты: gniiivm_2@mil.ru; Телефон: +7 (812) 527-39-57