

**ОТЗЫВ
ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

на диссертацию Вакуненко О. А. на тему «Экспериментальное обоснование выбора средств профилактики гастроэнтеротоксических эффектов миелоабляционных воздействий», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.3.4. Токсикология

Актуальность темы диссертационного исследования. Трансплантация стволовых кроветворных клеток применяется как один из основных методов лечения ряда гематологических и онкологических заболеваний. Необходимость миелоабляционного воздействия перед данным видом лечения в виде системной химиотерапии и облучения обуславливает возникновение побочных эффектов, в частности, поражение желудочно-кишечного тракта. Миелоабляционные воздействия на организм человека возможны и при последствиях ядерного взрыва, аварийного радионуклидного выброса и действия ипритов. Проявлениями гастроэнтеротоксичности являются развитие желудочно-кишечного стаза, повреждение слизистой кишечника и возникновение острой кишечной эндотоксемии. Эти потенциально летальные состояния провоцируют избыточный рост микрофлоры, эндотоксикоз и сепсис, а также делают невозможным нормальное питание и пероральный прием лекарственных средств. Актуальность настоящего исследования обусловлена ограниченным количеством препаратов, способных предотвратить проявления гастроэнтеротоксичности и является перспективным направлением для поиска средств профилактики миелоабляционных воздействий: нарушений регенерация эпителия, повышенной проницаемости стенок кишечника для содержащихся в химусе биологически активных веществ. Негативное последствие данного осложнения на успех миелоабляции очевидно, однако меры по его предупреждению отсутствуют. Перспективным направлением может стать медикаментозная профилактика повреждений ЖКТ, способная теоретически предотвратить развитие эндотоксемии. Это предположение ранее не имело экспериментального подтверждения.

Вх. № 4

« 27 » января 2026 г.

ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России

Диссертационный совет

Научная новизна исследования заключается в создании необходимых условий для оценки влияния перспективных энтеропротекторов, обоснования выбора показателей для скрининга средств профилактики с последующим детальным изучением выбранных лекарственных препаратов. Для этого определены параметры фармакологического и лучевого воздействия. Расчитаны значения LD_{99/30} и выявлены значения супралетальных доз с тем условием, чтобы животные переживали 3 суток (время, ожидания реципиентом пересадки стволовых кроветворных клеток). Для скрининга энтеропротекторов обоснован выбор двух показателей экспресс-оценки: суточной экскреции индикана с мочой и относительной массы желудочного химуса. Прошедшие отбор средства подлежат дальнейшему доклиническому изучению их влияния на выраженность острого кишечного мукозита, функциональное состояние энтерогематического барьера и организма в целом. Установлено, что гидрокарбонат натрия при пероральном применении является перспективным подходом к профилактике гастростаза при внутривенном введении циклофосфида в супралетальной дозе, а цистамина гидрохлорид перспективен при лучевой миелоабляции.

Обоснованность и достоверность результатов исследования. Достоверность полученных результатов основывается на глубоком анализе литературы, использовании достаточного объема выборки, выбором корректной экспериментальной модели, современными методами исследования, включающими токсикологические, радиобиологические, физиологические, химические, биохимические, гематологические, гистологические методы исследования. Дизайн эксперимента обеспечивает последовательное достижение поставленных задач. Каждый этап работы и полученные результаты напрямую соотносятся с целью исследования. Выводы и рекомендации автора полностью обоснованы полученными данными. Положения на защиту представляют собой системную сводку этих выводов.

По материалам диссертационной работы опубликовано 12 научных работ, из них 7 статей в отечественных научных журналах, рекомендованных Высшей

аттестационной комиссией Российской Федерации, 4 переводные статьи и 1 статья в сборнике научной конференции.

Значимость для науки и практики результатов, полученных автором диссертации. Результаты исследования внедрены в практическую деятельность ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России и в учебный процесс кафедры военной токсикологии и медицинской защиты федерального государственного бюджетного военного образовательного учреждения высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации. Исследование выполнено в рамках Государственного задания в ходе прикладной научно-исследовательской работы ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова ФМБА России.

Структура, содержание и оформление диссертации. Диссертационная работа изложена на 181 странице машинописного текста, где представлены введение, анализ состояния проблемы, материалы и методы исследования, разработка экспериментальных моделей и методов скрининга, четыре главы с результатами исследований, одна глава с обсуждением результатов, заключение, а также выводы, научно-практические рекомендации и список литературы. В работе содержится 8 таблиц и 54 рисунка. В списке использованной литературы представлены 66 отечественных и 157 зарубежных источников.

Во введении обоснована актуальность научной проблемы, поставлены цель и конкретные задачи работы. Обозначены новизна, теоретическая и практическая значимость исследования и его методологические основы. Изложены защищаемые положения, данные по апробации и верификации результатов, оценен вклад автора. В заключительной части указаны структура и объем диссертации и соответствие паспорту научной специальности 3.3.4 Токсикология.

Первая глава диссертации, посвящена анализу проблемы гастроэнтеротоксичности, возникающей при миелоаблационных воздействиях. В ней систематизированы данные о критических тканевых системах, поражаемых при миелоабляции, и описана дозовая зависимость этих

поражений. Дана характеристика нормального энтерогематического барьера. Автором обоснован выбор критериев для оценки токсического повреждения, включающая энтероцитопению, острую дисфункцию ЭГБ, нарушения моторики и эндотоксемию. Проанализирована адаптация существующих методов оценки для целей данного исследования. Отдельно рассмотрены принципы оценки эффективности кандидатных энтеропротекторов на этапах скрининга и детального изучения. Формулировкой конкретных исследовательских задач глава завершается.

Во второй главе представлены материалы и методы, иллюстрированные соответствующими рисунками. Для верификации миелоабляции применяли гематологический анализ и оценку изменений в кроветворных органах. Кишечную эндотоксемию и содержание индикана в моче (по оригинальной колориметрической методике) определяли биохимически. Проницаемость энтерогематического барьера исследовали с помощью гистологии тонкой кишки, анализа её биохимических маркеров и авторской версии лактулозо-маннитолового теста методом ВЭЖХ-МС/МС. Состояние животных оценивали по выживаемости, газообмену, динамике массы тела и спонтанной двигательной активности. Статистическую обработку данных проводили современными методами.

В третьей главе изложены результаты разработки экспериментальных моделей, методов скрининга и доклинического изучения энтеропротекторов. Подобраны дозы миелоабляционных агентов, моделирующие у крыс кондиционирование. Для циклофосфамида эта доза составила 390 мг/кг при внутривенном введении, а для общего однократного рентгеновского облучения — 9,64 Гр. Установлено, что данные дозы приводят к гипоплазии кроветворных органов и цитопении в первые трое суток, и ведут к некротическим и воспалительным повреждениям эпителия тонкой кишки. Для первичного скрининга рекомендованы простые и информативные методы: оценка относительной массы желудочного химуса и суточной экскреции индикана в моче (по авторской модификации). Для детального изучения влияния

препаратов на проницаемость ЭГБ применена оригинальная методика лактулозо-маннитолового теста с введением смеси углеводов в двенадцатиперстную кишку и их последующим хроматографическим определением в портальной крови. Определены оптимальные сроки профилактического введения энтеропротекторов: за 30 минут (для защиты желудка) и за 4 часа (для защиты тонкого кишечника) до воздействия.

В четвертой главе анализируется воздействие потенциальных энтеропротекторов на двигательную активность желудка и тонкой кишки. Результаты показали, что эффективным методом профилактики при внутривенном введении циклофосфида является двукратное внутрижелудочное введение 4% раствора гидрокарбоната натрия или 0,3% раствора соляной кислоты в объеме 15 мл/кг. Цистамина дигидрохлорид, введенный в желудок в дозе 120 мг/кг за 30 минут до воздействия, оказывает выраженный профилактический эффект в условиях лучевой миелоабляции.

В главе пять автором проведен анализ влияния исследуемых энтеропротекторов на проявления острой кишечной эндотоксемии. Для этого использовали комплекс методов: экспресс-оценку экскреции индикана с мочой, а также определение уровня эндотоксина и мочевины в крови из воротной вены. Рассматривая полученные данные с позиции профилактики эндотоксемии, эффективным является применение гидрокарбоната натрия за 30 минут до и сразу после введения циклофосфида. В условиях лучевой миелоабляции аналогичный защитный эффект показал цистамина дигидрохлорид в дозе 120 мг/кг, введенный за 30 минут до облучения.

Глава шесть содержит результаты морфометрической оценки состояния слизистой оболочки желудка и тонкой кишки на фоне применения потенциальных протекторов. Установлено, что у животных, получавших двукратно гидрокарбонат натрия, не наблюдались типичные для миелоабляции повреждения. Кроме того, введение энтеропротекторов нормализовало содержание в ткани кишки специфических ферментов энтероцитов — щелочной фосфатазы и холинэстеразы.

В главе семь проанализировано воздействие энтеропротекторов на общее функциональное состояние организма после миелоабляции. Оценивались динамика выживаемости и массы тела, показатели газообмена и внешнего дыхания в покое, а также уровень спонтанной двигательной активности. Результаты демонстрируют, что гидрокарбонат натрия оказывал выраженное протективное действие, что проявлялось в увеличении средней продолжительности жизни, отсрочке начала потери массы тела, а также в предотвращении угнетения газообмена и поведенческих нарушений у животных.

В главе восемь проведено обсуждение полученных данных, касающихся характера гастроэнтеротоксичности и эффективности её фармакологической профилактики.

В заключении автор кратко формулирует итоги диссертационного исследования и перспективы дальнейшей разработки темы.

На основании проведенного анализа автор формулирует семь ключевых выводов, определяет перспективные направления для дальнейших исследований и предлагает практические рекомендации. Сформулированные выводы и рекомендации логически вытекают из полученных результатов, имеют четкое обоснование и полностью соответствуют цели, задачам и положениям, выносимым на защиту.

Соответствие автореферата содержанию диссертации. Автореферат диссертации Вакуненко О. А. «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 диссертационного исследования: сведения об актуальности темы, научную новизну, теоретическую и практическую значимости работы, методологии и методах исследования, основных результатов с их обсуждением, выводы, практические рекомендации и список работ, опубликованных автором по теме диссертационного исследования.

Замечания и вопросы по диссертационной работе:

1. В рамках гастроэнтеротоксического исследования протективного потенциала гидрокарбоната натрия, как модулятора важного звена патогенеза дегенеративного процесса слизисто-эпителиального слоя кишечника при миелоабляционных воздействиях в качестве модельного организма использованы исключительно крысы, что не отражено в названии диссертационной работы. Считает ли автор организм крысы биоэквивалентным другим видам животных с учетом градиента гидролиза-всасывания в ЖКТ, слепокишечного типа пищеварения и роли копрофагии у грызунов.

2. Гидрокарбонат натрия в современной медицинской практике применяется, на системном уровне, например, при метаболическом ацидозе, и при местном применении в качестве антисептического и противовоспалительного препарата. Считает ли автор модуляцию кислотно-щелочного и водного баланса эффективным и в отношении кишечной микробиоты, в особенности в дистальных отделах кишечника?

3. В литературном обзоре и обсуждении результатов, автор неоднократно указывает на важную роль кишечной микробиоты в реализации ЭГБ, ссылаясь на косвенные подтверждения участия условно-патогенной микробиоты в эндотоксемии при миелоабляционных воздействиях. Чем объясняется отсутствие данных об изменении состава кишечной микробиоты в исследовании?

4. Обсуждалась ли автором идея разработки методики количественной оценки гастростаза при переходе количественных показателей от гастроэнтеропротекции к полиорганной дисфункции?

Указанные замечания не снижают значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку исследования.

Заключение

Диссертация 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 завершенной, самостоятельно выполненной научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных исследований решена важная и актуальная задача, имеющая существенное значение для снижения трудоёмкости поиска средств профилактики гастроэнтеротоксических эффектов миелоабляционных воздействий. По актуальности, новизне полученных результатов, объему, методическому и методологическому уровню проведенных исследований, теоретической и научно-практической значимости диссертационная работа соответствует критериям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (с последующими редакциями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Вакуненко О.А. достоин присуждения искомой степени по специальности 3.3.4. Токсикология.

Официальный оппонент:

Заведующий НИО физиологической микроэндоэкологии Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, кандидат биологических наук (1.5.5)

« 22 » января 2026

Борщев Юрий Юрьевич

Подпись кандидата биологических наук
Борщева Ю.Ю. заверяю:

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России,
доктор медицинских наук, профессор

« 22 » января 2026



Недосвин Александр Олегович

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Минздрава России. 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2. Тел.: 8-812-7023749-003185, e-mail: Borshchev_YuYu@almazovcentre.ru