



РОССИЙСКАЯ  
ВОЕННО-  
МЕДИЦИНСКАЯ  
АКАДЕМИЯ

КАФЕДРА  
ФАРМАКОЛОГИИ



Санкт-Петербург, 194044, ул. Лебедева, д. 6  
E-mail: shabanov@mail.rcm.ru

Тел./факс: (812) 542-43-97

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук профессора ШАБАНОВА Петра Дмитриевича  
на диссертацию ФРОЛОВОЙ Дарьи Евгеньевны на тему: «Клинико-  
фармакологические эффекты витамина D при опухоли молочной железы»,  
представленную к публичной защите  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук  
по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

### Актуальность проблемы

Изучение противоопухолевых эффектов витамина D на опухолевые клетки молочной железы является важным направлением в клинической фармакологии, открывающим новые перспективы для решения вопроса профилактики рака молочной железы и возможного предотвращения развития и прогрессирования злокачественного новообразования в этом органе. Длительное время витамин D рассматривался исключительно как один из жирорастворимых стероидных гормонов, и отношение к нему определялось исключительно понятиями дефицита (гиповитаминоз) и избытка (гипервитаминоз). В последние годы представления о витамине D в значительной мере пересмотрены, включая его возможную роль как регулятора избыточной клеточной пролиферации, ангиогенеза и программируемой гибели клеток (апоптоза). Именно из этих позиций исходит диссертант при выборе темы исследования, посвященной изучению роли витамина D в генезе злокачественной опухоли молочной железы. Диссертационное исследование Д.Е. ФРОЛОВОЙ фундаментально по сути и направлено на практическое внедрение полученных результатов. Автор поднимает целый новый пласт идей, уточняет методы их реализации, проводит анализ фармакологических возможностей, наконец, формулирует оригинальный подход к профилактике и лечению рака молочной железы

дозозависимым подбором витамина Д таким пациентам, фактически обосновывая новую технологию лечения, разработанную и продуктивно примененную автором на доклиническом и клиническом уровне исследований.

Работа выполнена в рамках научно-исследовательских программ, разрабатываемых в ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» МЗ РФ, где традиционно уделяют много внимания изучению фундаментальных и прикладных аспектов биомедицинской науки, что лишний раз подтверждает востребованность научного изучения данной проблемы.

#### **Оценка наиболее значимых результатов, полученных автором**

Целью исследования диссертанта была оценка возможности влияния метаболитов витамина Д на предупреждение возникновения и прогрессирования злокачественной опухоли молочной железы. На основании цели сформулированы конкретные задачи исследования (их 5), касающиеся главным образом оценки противоопухолевых эффектов холекальциферола в модели перевиваемой карциномы лёгких Льюиса у мышей, анализа особенностей фармакокинетики разных лекарственных форм (масляный, водный раствор, капсула) субстанции холекальциферола у здоровых женщин, определении действия разных доз витамина Д на экспрессию генов, влияющих на опухолевый рост, проведении корреляционного анализа между содержанием метаболита 25(OH)D, показателями активности перекисного окисления липидов и прогрессированием рака молочной железы разных молекулярных подтипов опухолей у женщин и определении оптимальных суточных доз холекальциферола для пациенток с раком молочной железы и женщин с риском развития заболеваний молочной железы.

Для решения этих вопросов автор использовал большой набор современных фармакологических, физиологических, морфологических, генетических, клинических и клинико-лабораторных методов исследования. Постановка цели и задач работы понятны, конкретны и логичны.

Примененные методы исследования, а также характер и количество полученного материала адекватны цели и задачам диссертации. Значительный объем данных, их статистическая обработка, компоновка и дизайн работы, представление и высокий уровень анализа позволяют считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения и выводы вполне обоснованными. Заключение и выводы показывают, что основные цель и задачи исследования, поставленные в работе, достигнуты.

Методология исследований была традиционной и включала классические экспериментальные и клинические методы оценки фармакологической активности витамина Д и его производных *in vivo* и *in vitro*, а также проведение транскриптомных исследований с использованием новейших методов искусственного интеллекта для анализа «сверхбольших данных» на базе Института фармакоинформатики при ФИЦ ИУ РАН. Все исследования проведены на сертифицированном оборудовании.

В процессе исследований диссертантом был выявлен ряд важных закономерностей и находок. Так, в работе убедительно доказано наличие противоопухолевого эффекта холекальциферола в модели перевиваемой карциномы лёгких Льюиса у мышей, в том числе в отношении подавления процессов метастазирования перевиваемой карциномы лёгких. Это было подтверждено методами хемотранскриптомного анализа в отношении клеток опухоли молочной железы. Интересно отметить, что женщины со злокачественной опухолью молочной железы имеют низкую обеспеченность витамином Д на уровне менее 30 нг/мл. Более того, при снижении содержания промежуточного метаболита витамина Д – 25(OH)D до значений 18,9 нг/мл автором диагностировалось прогрессирование рака молочной железы. Коррекция дефицита витамина Д у женщин с раком молочной железы холекальциферолом в суточной дозе 4000 МЕ в течение 6 месяцев с последующим снижением дозы до 2000 МЕ, то есть восстановление физиологической обеспеченности витамином Д, приводило к снижению показателей перекисного окисления липидов и эндотелиальной функции сосудов, а также улучшало качество жизни пациенток, не снижая показателей эффективности достигнутого лечения.

Результаты исследований репрезентативны, объемны, корректно обработаны и представлены и, безусловно, не вызывают сомнений.

### **Обоснованность и достоверность результатов исследования**

Представленный большой объем экспериментальных и клинических данных (исследования выполнены *in vivo* на мышах-гибридах с перевиваемой карциномой легких Льюиса, *in silico* с использованием хемореактного моделирования, а также клинических исследований 3 лекарственных форм витамина Д – водного раствора, масляного раствора и пероральной формы – у 220 больных с раком молочной железы I–III стадии), соответствие дизайна исследования критериям доказательной медицины, комплексное исследование витамина Д и его метаболитов с использованием современных клинико-фармакологических методов, включая корректную статистическую обработку полученных данных, четкое представление материалов диссертации в виде рисунков, таблиц и обстоятельного описания, а также достаточный анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как вполне обоснованные.

### **Научная новизна**

Диссертант описывает в работе оригинальные данные о вовлеченности витамина Д в противоопухолевые процессы, воспроизведенные в модели перевиваемой карциномы лёгких Льюиса у мышей-гибридов F1 (CBA×C57Bl6) при действии холекальциферола в дозе 5 мкг/кг/сут. Проведенный анализ особенностей фармакокинетики препаратов витамина Д в разных лекарственных формах (водный раствор, масляный раствор и пероральная форма) доказал обеспечение стабильной концентрации 25(OH)D в организме при однократном суточном приеме 10 000 МЕ всех исследованных лекарственных форм. Безусловным достижением диссертанта является масштабное хемотранскриптомное исследование воздействия витамина Д на линию клеток-MCF7 опухоли молочной железы. Кроме того, определена низшая граница уровня

промежуточного метаболита витамина Д – 25(OH)D в сыворотке крови (> 18,9 нг/мл), ниже которой происходит прогрессирование рака молочной железы. И, напротив, предложена оптимальная доза холекальциферола 4000 МЕ/сут в течение 6 месяцев ежедневного приема у пациенток в качестве безопасной и эффективной дозы для предупреждения этого прогрессирования.

Рецензируемая работа может быть квалифицирована как доказательное обстоятельное исследование в области фундаментальной и клинической фармакологии, онкологии, гинекологии, внутренней медицины и медицинской науки в целом.

### **Теоретическая и научно-практическая значимость**

Теоретическое значение рецензируемой работы состоит в обосновании возможности использования витамина Д в качестве достаточно надежного фактора профилактики рака молочной железы. Безусловно, полученные данные дополняют и расширяют имеющиеся сведения о противоопухолевых эффектах витамина Д, в частности о его влиянии на прогрессирование опухолевого процесса. Разработаны, апробированы и предложены эффективные лечебные дозы витамина Д пациенткам со злокачественной опухолью молочной железы при его дефиците. Для лабораторных исследований выделен промежуточный метаболит витамина Д – 25(OH)D как биохимический маркер прогрессирования опухолевого процесса у женщин со злокачественной опухолью молочной железы. Наконец, *in silico* определены группы генов, экспрессия которых приводит к прогрессированию рака молочной железы.

Полученные данные получили всестороннюю апробацию, опубликованы в центральной печати, диссертант является соавтором 2 патентов РФ на изобретение по теме диссертации.

Представленные в диссертации данные следует рассматривать как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение для базисной и клинической фармакологии, онкологии и гинекологии.

Результаты исследований Д.Е. ФРОЛОВОЙ могут быть полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербургской государственном медицинском педиатрическом университете МЗ РФ, НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (Москва), Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ (Санкт-Петербург), учреждениях Российской академии наук, Министерства здравоохранения и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

### **Структура и оформление работы**

Работа изложена на 146 страницах машинописи, иллюстрирована 21 рисунком и 16 таблицами. Построение диссертации традиционное и соответствует ГОСТу РФ и требованиям ВАК. Диссертация включает введение (С.6-14), обзор литературы (С.15-44), главу материалов и методов исследования (С.45-61), 5 глав (главы 3-7) результатов исследований (С.62-115), заключение с обсуждением полученных результатов (С.116-123), выводы (С.123), практические рекомендации (С.124), перечень сокращений (С.125-126), список использованной литературы (С.127-146). Литературный указатель содержит 172 ссылки (35 отечественных и 137 иностранных) на работы, опубликованные в основном за последние 10 лет. Диссертация написана хорошим литературным языком и легко читается.

### **Статистика**

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Использованные статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 19 научных работ, из них 4 статьи, включенные в журналы, рекомендованные ВАК, 2 патента РФ на изобретение и 13 работ в сборниках научно-практических конференций.

Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

### **Автореферат**

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы, за исключением практических рекомендаций, которые приведены только в автореферате.

### **Выводы и практические рекомендации**

Диссертация содержит 5 выводов и 2 пункта практических рекомендаций. Все выводы и рекомендации обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний и возражений по диссертационной работе нет. Вместе с тем, в ходе рецензирования диссертационной работы возникли некоторые замечания и следующие вопросы, требующие дополнительного пояснения и уточнения:

1. На С.16-17 автореферата автор подчеркивает, что витамин Д *«снижает обеспеченность опухолевых клеток АТФ»*, ослабляя экспрессию генов, вовлеченных в энергетический метаболизм (из 482 генов вовлекаются только 20 генов нейрональных клеток, в том числе кодирующих митохондриальные комплексы дыхательной цепи, ферменты окислительного фосфорилирования, метаболизма глюкозо-6-фосфата, НАДФ-дегидрогеназу). Вопрос: значит ли это, что витамин Д вызывает состояние, близкое и сходное с гипоксией, при которой наблюдается подобные изменения? Может быть в этом случае целесообразно сочетание витамина Д с гипоксическим воздействием по типу локального или общего гипоксического preconditionирования? Просьба пояснить подробнее.

2. В выводе 4 одним из критериев прогрессирования рака молочной железы значится содержание холекальциферола в сыворотке крови не более 18,9 нг/мл (дается ссылка на результаты ROC-анализа). Вопрос: почему именно 18,9 нг/мл, а, например, не 17 нг/мл, или 20 нг/мл, тем более что в таблице, приводимой диссертантом (табл. 4, С.19 автореферата) приводится цифра  $17,10 \pm 1,55$  нг/мл, а чувствительность метода, вероятно, составляет не меньше  $\pm 5-7\%$ ? Просьба пояснить.

3. Как автор видит потенциальное место определения холекальциферола в сыворотке крови в качестве прогностического критерия при оценке прогрессирования рака молочной железы? Насколько реально проводить такие исследования в онкодиспансерах или других специализированных учреждениях?

4. Имеются небольшие замечания по оформлению диссертации, некоторые неточности, опечатки, неправильно расставленные знаки препинания. Однако это встречается у большинства диссертантов и не влияет на восприятие работы как научного квалификационного труда.

Говоря в целом, работа производит весьма благоприятное впечатление, как по сути, так и по оформлению.

Все приведенные вопросы и замечания не затрагивают существа работы и сформулированы в плане дискуссии.

### **Заключение**

Диссертация ФРОЛОВОЙ Дарьи Евгеньевны на тему: «Клинико-фармакологические эффекты витамина D при опухоли молочной железы», выполненная под научным руководством доктора медицинских наук профессора О.А. Громовой и представленная к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, является завершенной, самостоятельно выполненной научной квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области экспериментальной и клинической фармакологии, состоящей в оценке возможности влияния активных метаболитов витамина D на предупреждение возникновения и



прогрессирования злокачественной опухоли молочной железы, что имеет большое значение для фармакологии, клинической фармакологии, онкологии, гинекологии и медицинской науки в целом. Работа полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п.4 «Исследование взаимодействий между организмом и лекарственными средствами, изучение их фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма»). Научная новизна и практическая значимость результатов исследования позволяют утверждать, что данное исследование соответствует п.9 Положения ВАК Министерства образования РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 (редакция от 21.04.2016 г. №335 и от 20.03.2021 г. №426) о порядке присуждения ученых степеней на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, ФРОЛОВА Дарья Евгеньевна, по своей эрудиции, компетенциям, авторитету, научному и практическому опыту достойна присуждения искомой степени.

Официальный оппонент:

Профессор кафедры фармакологии  
ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия  
им. С.М. Кирова» МО РФ  
доктор медицинских наук профессор

Петр Дмитриевич ШАБАНОВ  
тел. 8-921-900-1951, e-mail: [pdshabanov@mail.ru](mailto:pdshabanov@mail.ru)  
Санкт-Петербург, 194044, ул. Акад. Лебедева, 6

«21» декабря 2022 года

Подпись профессора П.Д. Шабанова заверяю  
Начальник ОНР и ПНПК полковник медицинской службы



Д.В. Овчинников