



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 Рубашкиной Анны Николаевны «Клинико-фармакологические эффекты 7-гидроксиматаирезинола в лечении фиброзно-кистозной мастопатии», представленную к публичной защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Актуальность проблемы

Поиск и изучение новых фармакологических средств, обладающих противоопухолевыми и иными защитными свойствами, относится к одной из ведущих биомедицинских проблем во всем мире. Это связано, с одной стороны, с все более широким выявлением состояний, предшествующих клиническому развитию опухолей (предопухолевых) за счет улучшения их диагностики, с другой стороны, с поиском относительно универсальных средств, способных защищать или замедлять переход из предонкологического состояния в стадию клинического развития опухоли. Ярким примером этого положения может рассматриваться фиброзно-кистозная мастопатия (доброкачественная дисплазия), оцениваемая как предопухолевое заболевание молочной железы у женщин. Специалисты указанного профиля (гинекологи), как правило, мало обращают внимание на данную патологию и, как правило, не назначают соответствующего лечения, направленного на снижение проонкогенной активности женских половых гормонов. Тем не менее, изучение закономерностей трансформации предонкологического состояния в фазу клинической манифестации болезни, как и разработка фармакологических методов замедления этого

процесса, остается востребованным как с точки зрения фундаментальной медицинской науки, так и для число практических утилитарных целей. Поэтому появление работы А.Н. Рубашкиной следует приветствовать, поскольку оно 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 лечению мастопатии с помощью новых производных фенола (лигнанов), фактически обосновывая новую технологию применения таких соединений, разработанную и продуктивно примененную автором на доклиническом и клиническом уровне исследований.

Работа выполнена в рамках научно-исследовательских программ, разрабатываемых в ФГБОУ ВО «Ивановский государственный медицинский университет» МЗ РФ, где традиционно уделяют много внимания изучению фундаментальных и прикладных аспектов биомедицинской науки, включая разработку и изучение противоопухолевых средств, что лишний раз подтверждает востребованность научного изучения данной проблемы.

Оценка наиболее значимых результатов, полученных автором

Целью исследования диссертанта было изучение клинко-фармакологических эффектов 7-гидроксиматаирезинола в эксперименте с солидной карциномой Эрлиха, а также возможности влияния этого лигнана на фиброзно-кистозную мастопатию у женщин в постменопаузальном периоде. На основании цели сформулированы конкретные задачи исследования (их 5), касающиеся главным образом хемореактомного и хемотранскриптомного анализа действия 7-гидроксиматаирезинола на экспрессию генов, влияющих на опухолевый рост в клетках линии MCF-7 (опухоль молочной железы), эффектов фармацевтической субстанции 7-гидроксиматаирезинола в дозах 60 и 120 мг/кг/сут на скорость роста солидной карциномы Эрлиха и эффективность применения 7-гидроксиматаирезинола в дозе 120 мг/кг/сут совместно с эстрадиолом валератом в дозе 0,51 мг/кг/сут у мышей, а также ряд клинических задач,

включая оценку состояния репродуктивного и соматического здоровья, а также менопаузальный индекс Куппермана и результаты ультразвукового исследования молочных желез у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией в динамике применения 7-гидроксиматаирезинола, изучение спектра метаболитов эстрогенов и их соотношение в суточной моче, а также липидного спектра в динамике применения 7-гидроксиматаирезинола в плазме крови у пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией в постменопаузальном периоде, наконец, оценка эффективности 7-гидроксиматаирезинола в эксперименте с солидной карциномой Эрлиха и в лечении фиброзно-кистозной мастопатией у пациенток постменопаузального периода и его влияние на уровень метаболитов эстрогенов в динамике терапии в течение трех месяцев. Для решения этих вопросов автор использовал большой набор современных фармакологических, биохимических, патофизиологических, генно-инженерных и 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 использование экспериментального физиологического, иммуногистохимического, хемотранскриптомного и клинко-лабораторного методов, соответствующим современным принципам проведения лабораторных и экспериментальных исследований. Работа проводилась с соблюдением правил научных исследований и основывалась на принципах биоэтики. Все исследования проведены на сертифицированном оборудовании.

В процессе исследований диссертантом был выявлен ряд важных закономерностей и находок. Так, в работе убедительно доказано, что 7-гидроксиматаирезинол проявляет противоопухолевый эффект в модели перевиваемой карциномы Эрлиха у аутбредных мышей, тормозя интенсивность роста опухолей. Наиболее выраженный эффект отмечался при использовании 120 мг/сут 7-гидроксиматаирезинола. Методом дифференциального хемотранскриптомного анализа подтверждено, что 7-гидроксиматаирезинол дозозависимо действует на клетки опухоли молочной железы (линия Michigan Cancer Foundation-7), что проявляется статистически значимыми отличиями в экспрессии генов, относящихся к 56 категориям номенклатуры GO. Более конкретно, 7-гидроксиматаирезинол тормозит процессы пролиферации и жизнедеятельности опухолевых клеток, одновременно защищая организм от избыточного воспаления. В клинических исследованиях показано, что женщины с фиброзно-кистозной мастопатией имеют низкие показатели коэффициента 2/16 (менее 1,58), что указывает на повышенный риск развития фиброзно-кистозной мастопатии. Лечение женщин с фиброзно-кистозной мастопатией с помощью БАД «Лигнариус», содержащей в качестве действующего вещества 7-гидроксиматаирезинол, в дозе 60 мг/сут в течение одного месяца снижало уровень эстрогенов, повышало коэффициент 2/16, а также улучшало показатели липидного обмена. По мнению автора, восстановление физиологических показателей метаболитов эстрогенов и липидного обмена у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией улучшает качество их жизни и уменьшает клинические проявления данного заболевания.

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

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Представленный большой объем экспериментальных данных (исследования включали экспериментальную часть, состоящую из исследований *in silico* с использованием хемореактомного моделирования воздействия на клеточные структуры нейрональных клеток линии NPC и на

опухолевые клетки молочной железы линии MCF7, и опытов *in vivo* на экспериментальных животных – аутбредных мышах самках, у которых моделировали опухолевые состояния по типу карциномы Эрлиха и на клеточной линии опухоли молочной железы Michigan Cancer Foundation-7, а также клиническая часть исследования, включающая изучение 60 женщин с фиброзно-кистозной мастопатией, леченных 7-гидроксиматаирезинолом с анализом обмена эстрогенов и липидов), соответствие дизайна исследования критериям доказательной медицины, комплексное обследование соединений с использованием современных 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 об антипролиферативных свойствах 7-гидроксиматаирезинола (60-120 мг/сут), подтверждаемых в модели перевиваемой карциномы Эрлиха (рак молочной железы) у аутбредных мышей. Противоопухолевый эффект зависел от дозы, проявляясь с 7-х по 21-е сутки эксперимента. Хемотранскриптомный анализ воздействия молекулы 7-гидроксиматаирезинола на опухолевые клетки линии MCF-7 выявил дозозависимое уменьшение транскрипции группы генов, влияющих на экспрессию онкопролиферативных генов, генов синтеза белка и протеолиза белка, синтеза АТФ в опухолевых клетках и регуляции хронического воспаления, что приводит к торможению процессов пролиферации и жизнедеятельности опухолевых клеток, одновременно защищая организм от избыточного воспаления. На основании анализа автор допускает, что помимо противоопухолевого эффекта для 7-гидроксиматаирезинола может быть выявлен антибактериальный, противовирусный, гепатопротекторный, противовоспалительный, вазодила-

тирующий, гиполипидемический, антитромботический, антиоксидантный, противодиабетический и нейропротекторный эффекты. В клинической части работы у пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией 7-гидроксиматаирезинол в дозе 60 мг/сут при ежедневном приеме в течение одного месяца положительно влиял на динамику уровня эстрогенов и их метаболитов в суточной моче, показатели липидного профиля крови, клинические показатели и данные ультразвукового исследования молочной железы. При этом установлено достоверное повышение соотношений уровней метаболитов 2-OHE1 к 16a-OHE1 (так называемый коэффициент 2/16), что свидетельствует о снижении риска трансформации фиброзно-кистозной мастопатии в рак молочной железы.

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

Теоретическая и научно-практическая значимость

Теоретическое значение рецензируемой работы состоит в обосновании возможности использования лигнана 7-гидроксиматаирезинола (БАД «Лигнариус») в качестве средства лечения фиброзно-кистозной мастопатии, а также в качестве потенциально активного средства лечения опухолей других классов (гепатомы, опухолей молочной железы, матки, предстательной железы и аденоматозной полипозной кишечной неоплазии) за счет нормализации темпа деления клеток. Автором расширены существующие научные представления о патогенетических механизмах фиброзно-кистозной мастопатии, в частности, показана значимость нарушений метаболического профиля эстрогенов и липидного обмена. Экспериментальные данные позволили автору разработать новые подходы к диагностике фиброзно-кистозной мастопатии у женщин постменопаузального периода путем определения уровня метаболитов эстрогенов. Конкретным внедрением результатов работы в практическое здравоохранение стал разработанный автором и предложенный в

клиническую практику новый способ профилактики и лечения фиброзно-кистозной мастопатии у женщин менопаузального периода (патент РФ RU2806529 «Способ выбора дозы БАД Лигнариус для пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией» от 01.11.2023 г.)

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

Результаты исследований А.Н. Рубашкиной 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, НМИЦ перспективных оригинальных фармацевтических технологий (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 165 страницах машинописи, иллюстрирована 28 рисунками и 34 таблицами. Построение диссертации традиционное и соответствует ГОСТу РФ и требованиям ВАК. Диссертация включает введение (С.6-14), обзор литературы (С.15-31), главу материалов и методов исследования (С.32-39), 4 главы результатов исследований (С.40-131), в каждой из которой приведено обсуждение результатов и резюме к каждой главе, заключение (С.132-139), выводы (С.140-141), практические рекомендации (С.142), перечень сокращений (С.143), список использованной литературы (С.144-165). Литературный указатель содержит 193 ссылку (79 отечественных и 114 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. Используемые статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 8 статей, включенные в журналы, рекомендованные ВАК, 3 работы в сборниках научно-практических конференций, 1 патент РФ на изобретение. Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

Автореферат

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы.

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. Замечание касается отсутствие указания в автореферате диссертации на число использованных в работе экспериментальных животных ($n=74$), хотя оно указано в тексте диссертации на стр.34. Также в

автореферате целесообразно было бы привести заключение с указанием основных итогов работы и перспектив дальнейшего развития темы.

2. В выводе 2, достаточно пространным, имеется фраза: «Использование 7-гидроксиматаирезинола было ассоциировано с дифференцированным откликом животных на прием препаратов: у одних животных рост массы тела замедлялся, у других – ускорялся». Эта закономерность наблюдается довольно часто в экспериментах с перевиваемыми опухолями и их лечением. В наших исследованиях с лечением перевиваемой опухоли Эрлиха холинергическими соединениями мы также наблюдали подобный феномен. С чем, в данном случае, связано такое различие: у одних животных замедление процесса, у других – ускорение? Просьба пояснить.

3. В выводе 4 описывается положительное влияние 7-гидроксиматаирезинола на липидный спектр женщин с мастопатией. Вопрос: как это связано, если связано, с противоопухолевой активностью препарата? Или же это его независимое действие, о чем автор отмечал в разделе «Научная новизна», абзац 4 (стр.5 автореферата)? Просьба пояснить подробнее, тем более, что это действие автор приводит и обсуждает весьма подробно в разных разделах диссертации.

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 Рубашкиной Анны Николаевны на тему «Клинико-фармакологические эффекты 7-гидроксиматаирезинола в лечении фиброзно-кистозной мастопатии», 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 завершённой, самостоятельно выполненной научной квалификационной

работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи в области экспериментальной и клинической фармакологии, состоящей в выявлении и изучении противоопухолевых свойств лигнана 7-гидроксиматаирезинола в доклинических и клинических исследованиях, что имеет большое значение для фармакологии, клинической фармакологии, гинекологии и медицинской науки в целом. Работа полностью соответствует паспорту специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология («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 (в действующей редакции Постановления Правительства РФ от 25.01.2024 г. № 62) о порядке присуждения ученых степеней на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Рубашкина Анна Николаевна, 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» Минобороны РФ
доктор медицинских наук профессор

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

«18» ноября 2024 года

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



Д. Овчинников