

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Ивановский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

РУБАШКИНА АННА НИКОЛАЕВНА

**КЛИНИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ
7-ГИДРОКСИМАТАИРЕЗИНОЛА
В ЛЕЧЕНИИ ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ МАСТОПАТИИ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Громова Ольга Алексеевна,

доктор медицинских наук, профессор

Иваново – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.	15
1.1. Современные представления о лигнанах.	15
1.2. Свойства 7-гидроксиматаирезинола.	16
1.2.1. Фармакокинетика и токсичность 7-гидроксиматаирезинола.	17
1.2.2. Противовоспалительные свойства 7-гидроксиматаирезинола.	18
1.2.3. Потенциальные эстрогенные свойства 7-гидроксиматаирезинола.	20
1.2.4. Противоопухолевые свойства 7-гидроксиматаирезинола.	24
1.2.5. Современные подходы к изучению фармакологического действия лекарственных веществ.	26
1.3 Классификация доброкачественных заболеваний молочных желез. Эпидемиология. Этиология и патогенез доброкачественной дисплазии молочной железы.	27
1.4. Современные представления о влиянии эстрогенов на обмен липидов.	28
1.5. Клиническая картина фиброзно-кистозной мастопатии и современные представления о ее лечении.	29
1.6. Резюме к главе 1.	30
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.	32
2.1. Организация работы и объем исследований.	32
2.2. Методы исследования.	37

Глава 3. ХЕМОРЕАКТОМНЫЙ АНАЛИЗ СВОЙСТВ 7-ГИДРОКСИМАТАИРЕЗИНОЛА, 17-ЭСТРАДИОЛА, ФИТОЭСТРОГЕНА В-СИТОСТИРОЛА И ЭПИГАЛЛОКАТЕХИН-3-ГАЛЛАТА. ХЕМОТРАНСКРИПТОМНЫЙ И СИСТЕМНО- БИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЫ	
7-ГИДРОКСИМАТАИРЕЗИНОЛА.	40
3.1. Введение.	40
3.2. Результаты хемореактного моделирования свойств 7- гидроксиматаирезинола в сравнении с контрольными молекулами (17-эстрадиол, фитоэстроген β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат)	41
3.3. Результаты хемоинформационного сравнения химической структуры 7-гидроксиматаирезинола с молекулами в базе данных метаболома человека и с молекулами в базах данных лекарственных средств. . . .	42
3.4. Прогнозирование потенциальных фармакологических эффектов влияния 7-гидроксиматаирезинола.	46
3.4.1. Взаимодействие 7-гидроксиматаирезинола с рецепторами нейротрансмиттеров.	46
3.4.2. Прогнозируемые вазодилаторные эффекты 7-гидроксиматаирезинола.	49
3.4.3. Прогнозируемые противовоспалительные эффекты 7-гидроксиматаирезинола.	51
3.4.4. Прогнозируемые противоопухолевые эффекты 7-гидроксиматаирезинола.	55
3.4.5. Прогнозируемые антибактериальные и противовирусные эффекты молекулы 7-гидроксиматаирезинола.	62

3.5. Фармакопротеомное моделирование	
7-гидроксиматаирезинола.	65
3.6. Результаты хемотранскриптомного анализа и системно-биологический анализ молекулы	
7-гидроксиматаирезинола.	68
3.7. Резюме к главе 3.	83
Глава 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.	85
4.1. Модель злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха.	85
4.2. Оценка состояния лабораторных животных в модели злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха.	85
4.3 Оценка противоопухолевого действия 7-гидроксиматаирезинола на модели злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха.	88
4.4. Оценка противоопухолевого действия 7-гидроксиматаирезинола на фоне приёма эстрогена на модели злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха	91
4.5 Анализ выживаемости животных при приёме 7-гидроксиматаирезинола.	92
4.6. Резюме к главе 4.	94
Глава 5. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН. ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО СИНДРОМА И ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ МАСТОПАТИИ У ЖЕНЩИН НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ 7-ГИДРОКСИМАТАИРЕЗИНОЛА	95
5.1. Социально-экономический статус.	95
5.2. Репродуктивное поведение.	100
5.3. Состояние молочных желез	108

5.4. Климактерический и предменструальный синдромы у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией.	109
5.5. Особенности течения климактерического синдрома у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией.	111
5.6. Особенности течения фиброзно-кистозной мастопатии на фоне применения 7-гидроксиматаирезинола.	114
5.7. Резюме к главе 5.	117
Глава 6. ОЦЕНКА ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА И ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ У ЖЕНЩИН С ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ МАСТОПАТИЕЙ.	121
6.1. Анализ взаимодействий уровней эстрогенов с другими клинико-лабораторными показателями пациенток.	121
6.2. Динамика концентраций метаболитов эстрогенов у пациенток, получавших 7-гидроксиматаирезинол.	123
6.3. Оценка липидного профиля у обследованных женщин	126
6.4. Резюме к главе 6.	130
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	132
ВЫВОДЫ.	140
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.	142
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.	143
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.	144

ВВЕДЕНИЕ

Ежегодно во всем мире растет заболеваемость молочных желез (МолЖ). При этом повышается и выявляемость как доброкачественных, так и злокачественных заболеваний МолЖ. Поэтому проблема их эффективной профилактики и лечения сохраняет свою актуальность во всем мире. Доброкачественные заболевания МолЖ диагностируются у 25 % женщин в возрасте до 30 лет и у 60 % – после 40 лет [6, 42].

Многие формы доброкачественных дисплазий МолЖ (синоним – фиброзно-кистозная мастопатия) существенно повышают риск развития рака молочной железы (РМЖ). В связи с этим нельзя недооценивать роль мастопатии в формировании РМЖ [25].

Статистический учёт случаев фиброзно-кистозной мастопатии (ФКМ) не ведется. Однако ряд авторов [24, 25] отмечает, что частота ФКМ в женской популяции составляет до 50–60 %. Поэтому лечение ФКМ возможно и необходимо начинать в любом возрасте. Благодаря терапии улучшается качество жизни, происходит реабилитация репродуктивной функции женщин, а также это является ранней профилактикой онкологических заболеваний молочных желез [80].

Согласно приказу МЗ РФ № 572н от 2012 г., медицинскую помощь женщинам с целью выявления и лечения заболеваний МолЖ должен оказывать врач акушер-гинеколог. Патогенетическое лечение фиброзно-кистозной мастопатии (ФКМ) должно быть направлено на нормализацию гормонального баланса с разработкой наиболее рациональных комбинаций при проведении эффективной и безопасной фармакотерапии [25].

Доброкачественная дисплазия молочной железы (ДДМЖ) – это группа заболеваний, которая характеризуется широким спектром пролиферативных и регрессивных изменений тканей МолЖ с нарушением соотношений эпителиального и соединительнотканного компонентов [3, 23]. Синонимы ДДМЖ: мастопатия, фиброзно-кистозная мастопатия, ФКМ, фиброаденоматоз, фиброзно-кистозная болезнь, дисгормональная гиперплазия МолЖ.

Степень разработанности темы

Молочная железа является гормонозависимым органом, входящим в репродуктивную систему женщины. Для ее правильного развития и функционирования необходим целый ряд гормонов. К ним относят: рилизинг-фактор гипоталамуса, гонадотропные гормоны гипофиза (фолликулостимулирующий и лютеинизирующий), кортикостероиды, пролактин, прогестерон, эстрогены и андрогены. Не менее важны хорионический гонадотропин человека, тиреотропный гормон и инсулин [25].

ФКМ часто являются последствием дисбаланса в гипоталамо-гипофизарно-овариальной системе. Среди всех органов репродуктивной системы, подверженных риску развития в них гормонально зависимых гиперпластических процессов, МолЖ страдают чаще всего, поэтому первыми сигнализируют о нарушениях нейрогуморального гомеостаза [7]. В основе патогенеза ФКМ лежит хроническая гиперэстрогения, имеющая сложную клиническую и гистологическую картину, что сильно затрудняет как диагностику, так и терминологическое обозначение диффузных процессов [30, 53, 146].

Особенности клинического течения зависят от возраста и длительности течения мастопатии у женщин, начиная от раннего репродуктивного возраста и заканчивая стойкой менопаузой [27, 116].

В настоящее время предлагается множество вариантов диагностики, профилактики и лечения ФКМ.

Основным подходом к лечению мастопатии следует считать консервативную терапию. Помимо психологической коррекции и релаксирующей тренировок для пациенток, комфортных бюстгальтеров и правильного питания, врачи часто рекомендуют препараты на основе витекса священного [53, 115, 143], препараты микронизированного прогестерона [38, 69, 91, 112, 138, 161], индолкарбинола [16, 47, 50, 61, 66]. Данные лекарственные средства приводят к регрессу патологических процессов в МолЖ, снижают

уровень боли и чувства нагрубания МолЖ, а также уменьшают число и/или размеры кист [16, 38, 47, 61, 66, 69, 115, 143, 166].

Поскольку используемый в настоящее время арсенал средств для лечения мастопатии ограничен, представлен препаратами микронизированного прогестерона и фитопроизводными (индолкарбинол, экстракт витекса священного), поиск новых эффективных и безопасных молекул-кандидатов на основе растительных источников для профилактики и лечения мастопатии весьма актуален.

Изучение фармакологических хемоинформационных, хемотранскриптомных эффектов и возможности применения 7-гидроксиматаирезинола (7-ОН-МР) – лигнана, выделенного из сучков ели сибирской, в лечении мастопатии у больных в постменопаузальном периоде ранее не проводилось.

Цель научного исследования

Изучить клинико-фармакологические эффекты 7-гидроксиматаирезинола в эксперименте с солидной карциномой Эрлиха, а также возможности влияния этого лигнана на фиброзно-кистозную мастопатию у женщин в постменопаузальном периоде.

Задачи научного исследования

1. Методом хемореактомного и хемотранскриптомного анализа определить действие 7-гидроксиматаирезинола на экспрессию генов, влияющих на опухолевый рост в ОК линии MCF-7 (опухоль молочной железы).

2. Провести анализ 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.

3. Оценить состояние репродуктивного и соматического здоровья, а также менопаузальный индекс Куппермана и результаты ультразвукового исследования молочных желез у исследуемых женщин с фиброзно-кистозной мастопатией в динамике применения 7-гидроксиматаирезинола.

4. Оценить полный спектр метаболитов эстрогенов и их соотношение в суточной моче, а также липидный спектр в динамике применения 7-гидроксиматаирезинола в плазме крови у пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией в постменопаузальном периоде.

5. Оценить эффективность 7-гидроксиматаирезинола (фармацевтическая субстанция класс лигнанов) 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.

Научная новизна исследования

Впервые в эксперименте показана антипролиферативная роль 7-гидроксиматаирезинола в дозах 60 и 120 мг/сут на модели перевиваемой карциномы Эрлиха (рак молочной железы) у аутбредных мышей, получавших эстрадиола валерат, стимулирующий пролиферацию.

Впервые установлен дозозависимый антипролиферативный эффект 7-гидроксиматаирезинола. Показано, что при введении 7-гидроксиматаирезинола в дозе в 60 мг/кг/сут статистически значимые различия в среднем объеме опухолей наблюдались только на 21-е сутки, а при использовании дозы 120 мг/кг/сут средний объем опухоли был статистически значимо ниже ($p = 0,00036$), чем в группе контроля, уже на седьмые сутки.

Впервые выполнен хемотранскриптомный анализ воздействия молекулы 7-гидроксиматаирезинола на опухолевые клетки линии MCF-7, указавший на дифференцированное 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.

Результаты впервые проведенного хемореактомного анализа 7-гидроксиматаирезинола указывают на то, что данная молекула характеризуется не только противоопухолевым, но и, потенциально, антибактериальным, противовирусным, гепатопротекторным, противовоспалительным, вазодилатирующим, гиполипидемическими, антитромботическим, антиоксидантным, противодиабетическим, нейропротекторным эффектами.

У пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией доза 7-гидроксиматаирезинола 60 мг/сут при ежедневном приёме в течение одного месяца впервые определена как безопасная и эффективная на основании положительной динамики уровня эстрогенов и их метаболитов в суточной моче, показателей липидного профиля крови, клинических показателей и ультразвукового исследования молочной железы.

На фоне ежедневного приёма 7-гидроксиматаирезинола (60 мг/сут, один месяц) пациентками с фиброзно-кистозной мастопатией впервые установлена достоверная тенденция к повышению соотношений метаболитов 2-ОНЕ1 к 16а-ОНЕ1 (т. н. «коэффициент 2/16»), что свидетельствует о снижении риска трансформации фиброзно-кистозной мастопатии в рак молочной железы.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Публикации статей в научно-медицинских журналах.
2. Результаты систематического анализа исследований лигнана 7-гидроксиматаирезинола (препарат «Лигнариус») указали на его специфические противовоспалительные (ингибирование белка NF-κB, повышение экспрессии ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и гемоксигеназы-1) и противоопухолевые свойства (ингибирование роста гепатомы, опухолей

молочной железы, матки, предстательной железы и аденоматозной полипозной кишечной неоплазии), обусловленные нормализацией темпа деления клеток. Расширены существующие научные представления о патогенетических механизмах фиброзно-кистозной мастопатии: показана значимость нарушений метаболического профиля эстрогенов и липидного обмена.

3. На основании результатов комплексного исследования разработаны новые подходы к диагностике фиброзно-кистозной мастопатии у женщин постменопаузального периода путем определения уровня метаболитов эстрогенов.

4. Разработан и предложен в клиническую практику новый способ профилактики и лечения фиброзно-кистозной мастопатии у женщин менопаузального периода (пат. 2806529 от 1 ноября 2023 года «Способ выбора дозы БАД Лигнариус для пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией»).

Положения, выносимые на защиту

1. Исследование действия 7-гидроксиматаирезинола на модели перевиваемой карциномы Эрлиха у аутбредных мышей выявило наличие противоопухолевого эффекта. Анализ динамики роста среднего объема опухолевого узла показал, что применение 7-гидроксиматаирезинола тормозило интенсивность роста опухолей. Наиболее выраженный эффект отмечался при использовании 120 мг/сут 7-гидроксиматаирезинола.

2. Дифференциальный хемотранскриптомный анализ дозозависимого воздействия 7-гидроксиматаирезинола на клетки опухоли молочной железы (линия Michigan Cancer Foundation-7, MCF-7) по сравнению с контролем (линия клеток-предшественников нейронов NPC) показал статистически значимые отличия в экспрессии генов, относящихся к 56 категориям номенклатуры GO. 7-гидроксиматаирезинол в существенной мере тормозит процессы пролиферации и жизнедеятельности опухолевых клеток, одновременно защищая организм от избыточного воспаления.

3. Женщины с фиброзно-кистозной мастопатией имеют низкие показатели коэффициента 2/16 (менее 1,58). Содержание коэффициента 2/16 менее 2,0 связано с повышенным риском развития фиброзно-кистозной мастопатии.

4. Коррекция уровня метаболитов эстрогенов и липидного обмена у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией проводилась БАД «Лигнариус» (действующее вещество: 7-гидроксиматаирезинол, класс лигнанов) в дозе 60 мг/сут в течение одного месяца. Это позволило добиться снижения уровня эстрогенов, повышения коэффициента 2/16, а также улучшения показателей липидного профиля.

5. Восстановление физиологических показателей метаболитов эстрогенов и липидного обмена у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией улучшает качество их жизни и уменьшает клинические проявления данного заболевания.

Внедрение результатов в практику

Разработан новый способ профилактики и лечения фиброзно-кистозной мастопатии у женщин постменопаузального периода БАД «Лигнариус» (действующее вещество – 7-гидроксиматаирезинол), который прошел предрегистрационное испытание на базе ОБУЗ «Ивановский областной онкологический диспансер». Результаты исследования внедрены в практическую деятельность гинекологического и поликлинического отделений ОБУЗ «Ивановский областной онкологический диспансер», а также в учебный процесс ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России.

Апробация работы

Основные результаты исследования по теме диссертации докладывались и обсуждались на VII и VIII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические,

клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново, 2021, 2022).

Апробация диссертации состоялась на межкафедральном заседании сотрудников кафедр ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России: фармакологии; онкологии, акушерства и гинекологии; акушерства и гинекологии института последипломного образования; биохимии; химии, физики, математики; гистологии, эмбриологии, цитологии; нормальной физиологии; патологической анатомии; патофизиологии и иммунологии; биологии; пропедевтики внутренних болезней (протокол № 7 от 25 июня 2024 г.)

Публикации

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 8 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикаций результатов диссертаций, 4 статьи – в журналах, регистрируемых в РИНЦ (Российский индекс научного цитирования) и в Научной электронной библиотеке eLIBRARY.RU). Получен патент на изобретение.

Личное участие автора

Основная часть экспериментов, анализ, статистическая обработка результатов и формулировка на их основе выводов выполнены лично автором. Автор принимал активное участие в проведении хемотранскриптного и хемореактомного анализа. Также автором проводился отбор пациенток в исследуемые группы и их лечение согласно критериям включения и исключения, проводилась беседа с женщинами для получения согласия на участие в исследовании, осуществлялся сбор жалоб и анамнеза, заполнялись карты обследования. Полученные данные были статистически обработаны, проанализированы, результаты описаны. Автор сформулировал выводы, основные положения и практические рекомендации.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 165 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 193 источников, из них 79 отечественных и 114 иностранных. Работа иллюстрирована 34 таблицами и 28 рисунками.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о лигнанах

Лигнаны – группа фенольных соединений растительного происхождения, которые подразделяются на пять классов. Впервые лигнаны выделены в 1927 году Робертсоном. В 1936 году Хейвус ввёл понятие "лигнаны" в химию природных соединений. Наибольший практический интерес представляют лигнаны, обладающие противоопухолевой активностью (подофилотоксин, арктиин), матаирезинол, 7-гидроксиматаирезинол, диглюкозид секоизоларициресинола, секоизоларициресинол, соединения, стимулирующие ЦНС (лигнаны лимонника), гепатопротекторы (бициклол, лигнаны расторопши) [131]. Некоторые лигнаны обладают эстрогенной активностью. Лигнаны являются также антиоксидантами [122].

Лигнаны – биологически активные фитосоединения, которые встречаются в растениях многих семейств (астровые, аралиевые, барбарисовые, кунжутные, рутовые, сосновые и др.). Лигнаны оказывают положительное действие на климактерические проявления, а также способны профилактировать онкологические заболевания и остеопороз [108, 160].

Классификация лигнанов основана на строении углеродного скелета и разделена на следующие группы: производные дибензилбутана; производные дибензоциклооктандиена; производные дибензилбутиролактона; производные 2,6-дифенилтетрагидрофуорофурана; производные 1-фенилтетрагидронафталин-2,3-бутиролактона; флаволигнаны.

Лигнаны представляют собой кристаллические вещества, бесцветные или слегка окрашенные. Они хорошо растворяются как в спиртах, так и в водно-спиртовых смесях, а также в жирных, эфирных маслах и смолах, однако не способны растворяться в воде и не перегоняются с водяным паром. Поэтому выделение лигнанов из сырья вызывает большие трудности [135]. В результате исследований выявлено около 300 лигнанов, в том числе 30 гликозидов.

1.2. Свойства 7-гидроксиматаирезинола

Лигнан 7-ОН-МР был обнаружен в составе экстрактов ели (*Picea abies*), пихты белой (*Abies alba*), дугласовой пихты (*Pseudotsuga menziesii*) и других хвойных деревьев. 7-ОН-МР также является основным лигнаном зерновых (пшеницы, овса, ячменя, проса), отрубей кукурузы и цельного зерна амаранта [170]. В хвойных деревьях, произрастающих в лесах Норвегии, содержание гидроксиматерезинола достигает 84 % от общего количества лигнанов [165]. 7-ОН-МР и другие лигнаны растений (матаирезинол, сециолаларициретинол и др.) обладают антиоксидантными [81], противовоспалительными, противомикробными и противоопухолевыми свойствами [106, 170].

Проведенные хемореактомные оценки свойств молекулы 7-ОН-МР (действующее вещество препарата «Лигнариус») в сравнении с контрольными молекулами (17-эстрадиол, фитоэстроген, β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат) позволили установить молекулярные механизмы противовоспалительных (ингибирование 5-липоксигеназы, матриксной металлопротеиназы MMP2, митоген-активируемой киназы p38-альфа, рецептора лейкотриена b4, рецептора простациклина), противоопухолевых (антиоксидантный эффект за счёт ингибирования гемоксигеназы-2, ингибирование циклин-зависимых киназ 3 и 4, фактора роста эпидермиса, белка mTOR), вазодилаторных (ингибирование адренорецепторов и ренина), антибактериальных и противовирусных (ингибирование вирусных протеаз 3С) свойств молекулы 7-ОН-МР [77].

Несмотря на широкий спектр возможных фармакологических эффектов 7-ОН-МР, полученных в результате хемореактомного анализа, были изучены лишь некоторые из этих эффектов. В базе данных EMBASE представлено более 200 публикаций по исследованиям 7-ОН-МР, в базе данных PUBMED – 57. В настоящей работе представлены данные систематического анализа всех имеющихся научных публикаций по изучению биологических и биомедицинских эффектов молекулы 7-ОН-МР.

Далее последовательно описаны результаты экспериментальных и клинических исследований 7-ОН-МР, в т. ч. фармакокинетика, токсичность, противовоспалительные и противоопухолевые свойства. Отдельно рассмотрен вопрос о потенциальных проэстрогеновых свойствах молекулы.

1.2.1. Фармакокинетика и токсичность 7-гидроксиматерезинона

Фармакокинетика, биодоступность и влияние 7-ОН-МР на клинические симптомы в постменопаузе были исследованы у женщин, не проходивших заместительную гормонотерапию ($n = 22$). Участницы получали 36 мг/сут (низкая доза) либо 72 мг/сут 7-ОН-МР (высокая доза) в течение 8 недель. Фармакокинетический анализ показал, что для 7-ОН-МР отмечена максимальная концентрация $C_{max} = 757$ нг/мл за время $t_{max} = 1$ час. К 8-й неделе исследования уровни плазмы 7-ОН-МР статистически значимо увеличились при использовании и более низкой, и более высокой дозы 7-ОН-МР ($p < 0,05$) [192].

Под воздействием кишечной флоры 7-ОН-МР трансформируется в энтеролактон – основной продукт биотрансформации растительных лигнанов в организме. При приёме 36 или 72 мг/сут 7-ОН-МР в течение 8 недель уровни энтеролактона в плазме крови увеличивались в 1,5 раза в обеих группах, отмечалось снижение частоты приливов (см. далее). Дозы 7-ОН-МР до 72 мг в день в течение 8 недель были безопасными и хорошо переносимыми [192].

Исследование хронической токсичности 7-ОН-МР проводилось при назначении 7-ОН-МР в дозах 160, 640 и 2600 мг/кг в день в течение 13 недель ежедневного приёма. Воздействие 7-ОН-МР не оказывало существенного влияния на какие-либо внешние клинические симптомы, зрение или двигательную активность. В подгруппе самцов приём максимальной дозы был ассоциирован с незначительным падением веса к концу исследования, увеличением относительного веса почек. При приеме 2600 мг/кг в день было отмечено увеличение количества тромбоцитов (у самок) и уровня лейкоцитов (у самцов). У самок также было установлено некоторое удлинение

менструального цикла. Содержание триглицеридов плазмы дозозависимо снижалось при приеме препарата во всех трёх дозировках. Таким образом, при хроническом приеме 7-ОН-МР в дозе 160 мг/кг/сут не наблюдается никаких неблагоприятных эффектов [130].

В исследовании с участием здоровых добровольцев-мужчин 7-ОН-МР давался однократно в дозе до 1350 мг. В результате не было установлено каких-либо побочных эффектов от приёма 7-ОН-МР [88].

Токсикология 7-ОН-МР была исследована на беременных крысах, которым давались дотации 7-ОН-МР в дозах 140–180, 460–740 и 1190–2930 мг/кг/сут в течение 0–21 суток гестации. У животных были изучены стандартные параметры репродуктивной функции (индексы плодовитости и беременности, наличие или отсутствие жёлтого тела, имплантации яйцеклетки, потери яйцеклетки до и после имплантации, количество ранних и поздних резорбций эмбрионов, количество живых и мертвых плодов, вес репродуктивных органов). У плодов были исследованы внешние, висцеральные и скелетные изменения. В результате исследования было показано, что 7-ОН-МР не влияет на репродуктивную функцию и не вызывает тератогенеза. Масса тела и потребление пищи уменьшались во всех группах лечения в течение первых трех дней беременности вследствие снижения вкусовой привлекательности корма, т. к. 7-ОН-МР имеет характерный горьковатый вкус [93].

В исследованиях хронической токсичности 7-ОН-МР был, по существу, нетоксичным при назначении крысам (2000 мг/кг/сут, 28 сут) и собакам (665 мг/кг/сут, 28 сут), несмотря на то что 7-ОН-МР хорошо всасывается (более 50 % дозы) и быстро элиминируется [88].

1.2.2. Противовоспалительные свойства 7-гидроксиматерезинона

Лигнан 7-ОН-МР проявляет выраженную противовоспалительную активность и является эффективным ингибитором специфических воспалительных реакций с участием клеток, регулирующих процессы

воспаления, – моноцитов и гранулоцитов. В моноцитах линии ТНР-1 лигнан 7-ОН-МР дозозависимо ингибировал синтез/секрецию ФНО-альфа, а в гранулоцитах – снижал уровни активных форм кислорода и провоспалительного интерлейкина IL-8 [123].

Эндотелиальное воспаление является преобладающим состоянием в патогенезе многих сердечно-сосудистых заболеваний. Показано, что в эндотелиальных клетках аорты 7-ОН-МР ингибирует ФНО-альфа-индуцированную экспрессию белков клеточной адгезии ICAM-1/VCAM-1, что приводит к снижению ФНО-индуцированной адгезии моноцитов к эндотелиальным клеткам и к более низкой активации провоспалительного фактора транскрипции NF-κB, значительно снижая ФНО-альфа-индуцированное фосфорилирование NF-κB по аминокислотному остатку серин-536 (на 30–80 %) [83, 124].

В другом исследовании было подтверждено, что 7-ОН-МР тормозит ФНО-альфа-опосредованные воспалительные процессы именно за счёт ингибирования фосфорилирования провоспалительного фактора NF-κB (ФНО-альфа-связанного ядерного фактора κB) и ингибирования транслокации белка NF-κB внутрь клеточного ядра. В результате блокировки активности NF-κB 7-ОН-МР подавлял экспрессию мРНК и белка провоспалительных медиаторов ФНО-альфа (молекулы адгезии сосудистых клеток-1, интерлейкина-6, индуцибельной синтазы оксида азота) [188].

Кроме того, 7-ОН-МР дозозависимо тормозил ФНО-альфа-индуцированное фосфорилирование внеклеточной сигнально-регулируемой киназы 1/2 ERK (МАРК) и Akt, что важно для торможения роста количества опухолевых клеток (ОК), снижал уровни АФК за счёт индуцирования экспрессии ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и гемоксигеназы-1 и повышал экспрессию эритроидного ядерного фактора-2 (Nrf2), который активирует экспрессию ферментов антиоксидантной защиты [188].

1.2.3. Потенциальные эстрогенные свойства 7-гидроксиматерезинона

Ответы на вопрос о возможности существования про- или анти-эстрогеновых эффектов 7-ОН-МР достаточно противоречивы. В цитируемом ранее клиническом исследовании здоровых женщин в постменопаузе 7-ОН-МР быстро абсорбировался и метаболизировался до энтеролактона микробиотой кишечника. Клинически это сопровождалось статистически значимым снижением частоты приливов на 50 % от исходного уровня ($p = 0,025$, 8 недель) [192]. На основании этого результата некоторые исследователи делают предположение о якобы «проэстрогеновом» действии 7-ОН-МР. Однако данный вывод совершенно не обоснован. Рассмотрим более подробно патофизиологию приливов.

Приливы – вазомоторные симптомы, наиболее часто встречающиеся при менопаузе и при гормональных расстройствах репродуктивной системы. Более 80 % менопаузальных пациенток испытывают приливы, и более чем у 10 % женщин эти симптомы значительно понижают качество жизни. Считается, что менопаузальная гормональная терапия эстрогеновыми препаратами – одно из наиболее эффективных средств устранения приливов [64].

Хотя применение эстрогенов приводит к уменьшению остроты и частоты приливов у 80–90 % женщин, следует соблюдать осторожность в отношении их назначения всем пациенткам, страдающим РМЖ, раком яичников [127], раком матки [82], венозной тромбоэмболией или имеющим семейную историю рака груди [147]. Кроме того, эстрогеновая терапия приливов имеет негативные последствия, такие как головная боль, избыточная задержка жидкости, болезненность МолЖ, маточные кровотечения и др. [159].

Важно отметить, что устранение приливов при использовании 7-ОН-МР вовсе не является аргументом в пользу предполагаемого «проэстрогенового» действия препарата. Дело в том, что приливы возникают вследствие по крайней мере трёх патофизиологических механизмов: вегетативного (нарушения регуляции вегетативной нервной системы), абстинентного и гормонально-

нейротрансмиттерного (воздействие на терморегуляторное ядро гипоталамуса) [46, 63].

Действие эстрогенов на приливы связано, по всей видимости, именно с абстинентным механизмом (т. е. приливы – суть проявление своеобразной «абстиненции» эстроген-чувствительных нейрональных систем, находившихся долгое время в условиях высокого содержания эстрогенов). В самом деле, существует определенная схожесть в симптоматике менопаузы и симптоматики, связанной с абстинентным синдромом в случае болезней зависимости. Фактом, косвенно подтверждающим возможность абстиненции к эстрогенам, является провокация приливов при использовании менопаузальной гормональной терапии у пациенток с первичной аменореей [64].

В то же время воздействие того или иного препарата на патофизиологию приливов может осуществляться и по другим механизмам. В медиальной преоптической области гипоталамуса содержится терморегуляторное ядро, активирующее механизмы для поддержания температуры тела в нормальном диапазоне, называемом терморегуляторной зоной. У женщин с приливами имеет место сужение границ терморегуляторной зоны по сравнению с не имеющими приливов, что обусловлено избытком катехоламинов и недостатком серотонина [46, 63].

Например, молекула бета-аланин ни в коей мере не может считаться «проэстрогеновой», однако бета-аланин эффективен в терапии эстроген-зависимых приливов [17]. Бета-аланин и синтезируемый из него карнозин оказывают антигистаминное воздействие, тем самым облегчая симптоматику приливов [149]. Бета-аланин необходим для синтеза ацилкоэнзима-А – центрального кофермента биохимических путей, вовлеченных в метаболизм жиров, белков и углеводов. Био- и хемоинформационный анализы показали, что ингибирование бета-аланином активности глициновых и NMDA рецепторов может являться важным механизмом терапевтического воздействия препарата на патофизиологию приливов [46, 63, 71, 77]. Таким образом, воздействие на патофизиологию приливов, установленное в рамках того или иного

клинического исследования, не может являться доказательством воздействия 7-ОН-МР на рецепторы эстрогенов.

Другой механизм возможного «проэстрогенового» эффекта 7-ОН-МР заключается в воздействии на уровни эндогенных эстрогенов. Предполагается, что растительные лигнаны оказывают благотворное влияние на метаболизм эстрогенов. Например, проведено клиническое исследование многокомпонентной добавки, содержащей 7-ОН-МР, индол-3-карбинол, глюконат кальция, экстракты расторопши, крапивы, для профилактики опухолей МолЖ. Приём такой смеси в течение месяца значительно увеличивал концентрацию 2-гидроксиэстрогена в моче [156]. Однако этот эффект не исследовался отдельно для 7-ОН-МР, так что вопрос остаётся открытым.

Метаболиты 2-гидроксиэстрон (2-ОНЕ1) и 2-гидроксиэстрадиол (2-ОНЕ2) действуют как антиэстрогены. Они ингибируют митотическую активность клеток и препятствуют развитию неоплазии. Снижение их концентрации может соответствовать гиперэстрогемии. 16 α -гидроксиэстрон (16 α -ОНЕ1) и 4-гидроксиэстрон (4-ОНЕ1) являются агонистами эстрогенов. Их высокие концентрации способны стимулировать клеточную пролиферацию и ассоциированы с развитием эстрогенозависимых новообразований. Низкий уровень 16 α -гидроксиэстрогена является фактором риска развития остеопороза. Высокие уровни 4-гидроксиэстрогена оказывают прямое генотоксическое действие. Для 4-гидроксиэстрогена установлена связь со многими новообразованиями (с-г молочной железы у женщин и грудной железы у мужчин, с-г тела матки, яичников, поджелудочной железы, саркоматозные опухоли матки, с-г почки и др.). 2- и 4-метоксиэстрон являются неактивными и «защитными» формами метаболитов эстрогенов. Значения 2- и 4-метоксиэстрогена не менее 25 % от показателей 2-ОНЕ1 и 4-ОНЕ1 соответствуют процессам адекватного метилирования. Рассчитываемые коэффициенты: 2-ОНЕ1/16 α -ОНЕ1 – коэффициент 2/16. Коэффициент 2/16 меньше 2,0 связывают с повышенным риском развития синдрома поликистозных яичников, ФКМ, эндометриоза, CIN и с-г шейки матки и др. Коэффициент 2/16 больше 2,0 связывают со снижением

риска развития вышеперечисленных опухолевых образований. 2-ОНЕ1/2-ОМеЕ1 и 4-ОНЕ1/4-ОМеЕ1 – коэффициенты метилирования (КМ) – отражают активность 1-й и 2-й фаз трансформации эстрогенов по 2-ОН пути относительно друг друга и 4-ОН пути соответственно.

В целом, все имеющиеся аргументы в защиту предполагаемых «проэстрогенных» эффектов 7-ОН-МР являются косвенными. Опубликованных исследований, в которых было бы продемонстрировано непосредственное связывание лигнанов и рецепторов эстрогенов, не было найдено. По причине отсутствия прямых данных о взаимодействии 7-ОН-МР и других растительных лигнанов с рецепторами эстрогенов имеющиеся косвенные результаты достаточно противоречивы и во многом зависят от использованной методологии исследования.

Например, при применении первичных гепатоцитов линий клеток RTH-149 и ZF-L для скрининга эстрогенной активности лигнановых экстрактов *in vitro* эстрогенную активность измеряли как секрецию белка вителлогенина (эстроген индуцирует секрецию вителлогенина дозозависимым образом). В результате эстрогеновая активность лигнана 7-ОН-МР не была подтверждена [98].

В другом исследовании потенциальную «эстрогенность» 7-ОН-МР и энтеролактона оценивали по другой методологии: изучалось влияние различных веществ на рост и апоптотические маркеры в клеточной линии MCF-7, чувствительной к эстрогенам. Было установлено, что испытуемые вещества (7-ОН-МР, энтеролактон, эстрадиол) увеличивали процент клеток MCF-7 в S-фазе клеточного цикла, причём эффекты 7-ОН-МР и энтеролактона были снижены в присутствии антагониста рецептора эстрогена (тамоксифена) [112].

Выводы этого конкретного эксперимента, проведенного на культуре клеток, тем не менее, не достаточно обоснованы, поскольку (1) рост клеток линии MCF-7 может происходить не только из-за предполагаемых «проэстрогеновых» эффектов 7-ОН-МР, но и по многим другим механизмам, (2) тамоксифен может оказывать другое влияние на рост клеток, помимо взаимодействия с рецепторами эстрогенов (например, влиять на апоптоз белков

Bcl-2, Вах и др.), (3) не было получено прямых доказательств связывания 7-ОН-МР с рецепторами эстрогенов.

Следует отметить, что при анализе взаимодействий лигнана 7-ОН-МР со стероидными рецепторами *in vitro* в концентрациях менее 1,0 мкМ для 7-ОН-МР не было установлено никакой антиандрогенной, эстрогенной или антиэстрогенной активности [161]. Таким образом, молекулярные механизмы воздействия 7-ОН-МР на патофизиологию приливов требуют отдельного изучения.

1.2.4. Противоопухолевые свойства 7-гидроксиматерезинона

Установлено, что 7-ОН-МР характеризуется выраженными противоопухолевыми свойствами (профилактика образования и замедление роста уже имеющихся опухолей). 7-ОН-МР и его метаболит энтеролактон ингибируют рост модели опухоли МолЖ [189], индуцированной 7,12-диметилбензантраценом (ДМБА). Противоопухолевый эффект 7-ОН-МР наблюдается уже при использовании достаточно низкой дозы в 4,7 мг/кг в день [161]. Важно отметить, что противоопухолевый эффект характерен именно для 7-ОН-МР и матаирезинола, но не для весьма схожей молекулы – нортахелогенина. В отличие от 7-ОН-МР, нортахелогенин не ингибировал рост ДМБА-индуцированных опухолей МолЖ и не метаболизировался до энтеролактона [159]. Данный результат представляет существенный интерес для установления потенциальных молекулярных механизмов противоопухолевого воздействия 7-ОН-МР.

В эксперименте 7-ОН-МР и его метаболит энтеролактон уменьшают рост и метастазы клеток опухоли печени, привитых подкожно крысам (клеток гепатомы линии АН109А). Значение IC₅₀ (50%-ная ингибирующая концентрация) для пролиферации клеток гепатомы составило 200 мкМ, а для инвазии клеток гепатомы – 144 мкМ. 7-ОН-МР и энтеролактон подавляли пролиферацию клеток

гепатомы, удлиняя время деления клеток гепатомы и увеличивая скорость апоптоза [175].

Противоопухолевые эффекты 7-ОН-МР были показаны на модели рака предстательной железы (ксенотрансплантаты онкоклеток у мышей с резекцией тимуса). Спустя три дня после инъекций ОК назначали стандартную диету (контроль) или стандартную диету, дополненную 7-ОН-МР (0,15 % от общей массы), затем в течение девяти недель наблюдали скорость роста опухоли. По сравнению с контролем, приём 7-ОН-МР соответствовал меньшему объёму опухолей, меньшему темпу роста опухолей и большей интенсивности апоптоза ОК [134].

В эксперименте показано, что 7-ОН-МР позволяет осуществлять эффективную профилактику опухолей матки, вызванных однократным воздействием канцерогена N-этил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина на крыс в 11-недельном возрасте. После воздействия канцерогена осуществлялись дотации 7-ОН-МР (200 или 600 мг/кг в составе соевой диеты) до возраста в 15 месяцев. Заболеваемость аденокарциномой матки была значительно снижена уже при приёме 200 мг/кг 7-ОН-МР (11 %) (контроль – 50 %, $p < 0,05$). 7-ОН-МР метаболизировался главным образом в энтеро- и гидроксипентеролактон [97].

Приём 30 мг/кг/сут 7-ОН-МР имел статистически значимое ингибирующее воздействие на рост опухоли МолЖ крыс, индуцированной ДМБА. 7-ОН-МР уменьшал образование полипов и предотвращал накопление бета-катенина в ядре (патофизиологическая метка образования полипов) [97].

Химиопрофилактическая активность 7-ОН-МР также была показана на модели аденоматозной полипозной кишечной неоплазии у мышей. Среднее число аденом в тонком кишечнике при приёме 7-ОН-МР было существенно меньше ($26,6 \pm 11,0$, $p < 0,05$) по сравнению с мышами, которые получали плацебо – инулин ($39,6 \pm 8,9$). 7-ОН-МР приводит к нормализации уровня бета-катенина в ткани аденомы, следовательно, 7-ОН-МР опосредует свой химиопрофилактический эффект через β -катениновый сигнальный путь. Заметим, что приём 7-ОН-МР позволил восстановить внутриядерный уровень

бета-катенина в ткани аденомы ($0,41 \pm 0,25$ у. е.) до уровня, обнаруженного в неизменённых клетках окружающей слизистой оболочки ($0,36 \pm 0,28$ у. е.) [76, 144, 154, 170].

1.2.5. Современные подходы к изучению фармакологического действия лекарственных веществ

Большинство лекарств, как правило, воздействуют на активность белков протеома, что, в свою очередь, оказывает воздействие на метаболиты метаболома, реакции и каскады молекулярных маршрутов, а затем на состояние генома (рис. 1).

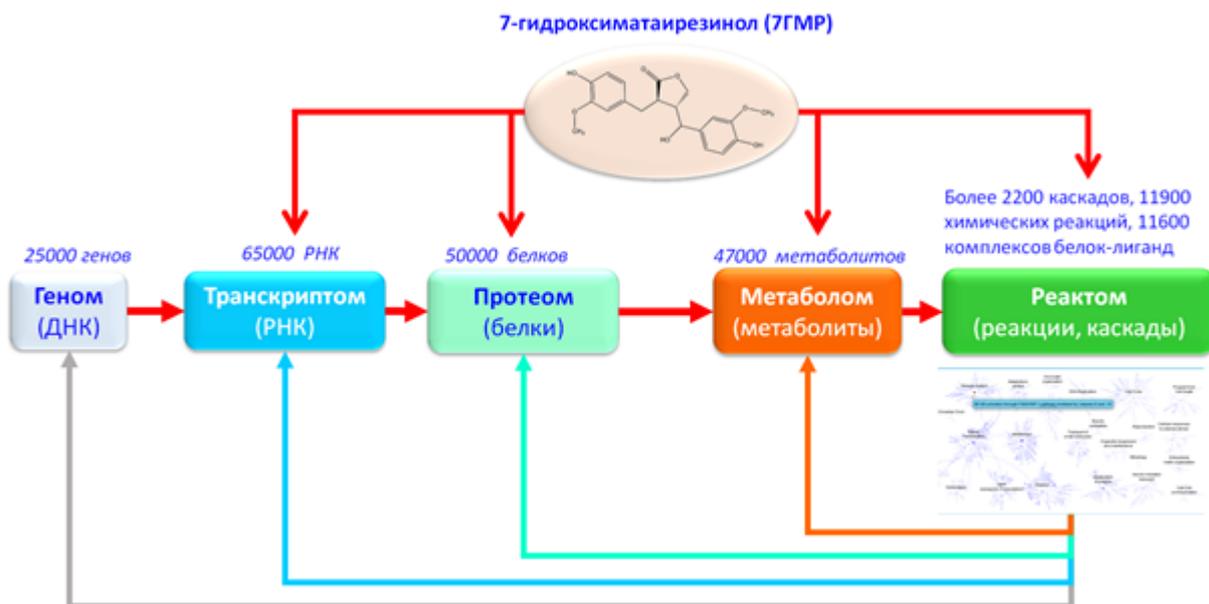


Рисунок 1 – Фармакологическая активность 7-гидроксиматаирезинола в постгеномной парадигме

Изучение воздействия молекул на транскрипцию генов позволяет оценить долговременные последствия приёма.

Исследование долговременных транскриптомных эффектов лекарств особенно важно для противоопухолевых препаратов, поскольку формирование резистентности ОК осуществляется в основном на уровне протеома [59].

Транскриптомные исследования *in vitro* проводятся путем анализа экспрессии генов с помощью ДНК-микрочипов.

В базе данных Gene Expression Omnibus (GEO) накоплены результаты более чем 160 000 транскриптомных исследований.

1.3. Классификация доброкачественных заболеваний молочных желез.

Эпидемиология. Этиология и патогенез доброкачественной дисплазии молочной железы

ДДМЖ – самая распространенная патология МолЖ. Частота заболевания в женской популяции составляет 50 % и выше. Максимальная заболеваемость ДДМЖ диагностируется в возрасте 40–44 лет с последующим медленным снижением к 65 годам [71]. Некоторые формы ДДМЖ ассоциированы с повышенным риском развития РМЖ в будущем [95, 191].

По системе МКБ-10 доброкачественные диспластические процессы в МолЖ представлены следующим образом: N60 – Доброкачественная дисплазия молочной железы, включая фиброзно-кистозную мастопатию; N60.0 – Солитарная киста молочной железы; N60.1 – Диффузная кистозная мастопатия; N60.2 – Фиброаденоз молочной железы; N60.3 – Фибросклероз молочной железы; N60.4 – Эктазия протоков молочной железы; N60.8 – Другие доброкачественные дисплазии молочной железы; N61 – Воспалительные болезни молочной железы; N62 – Гипертрофия молочной железы; N63 – Образование в молочной железе неуточненное; N64 – Другие болезни молочной железы.

Также по классификации выделяют узловую и диффузную форму мастопатии. Диффузная мастопатия делится на пять форм, к ним относятся: смешанная форма диффузной ФКМ, мастопатия с преобладанием железистого, фиброзного, кистозного компонента, склерозирующий аденоз.

Существует множество факторов риска, способствующих развитию ДДМЖ. К ним может относиться и низкий индекс массы тела в детском и

подростковом возрасте, и быстрый темп роста в подростковом периоде. Возможная причина кроется также в чрезмерном употреблении подростком в пищу животных жиров и мяса. Факторами риска развития ФКМ являются, кроме прочего, прием алкоголя (в возрасте от 16 до 23 лет), кофеина, дефицит пищевых волокон (в подростковом возрасте), овощей и фруктов, орехов (арахис), а также гиподинамия, комбинированная менопаузальная гормональная терапия на протяжении более 8 лет, врожденные и приобретенные генетические изменения [8, 35, 83, 86, 92, 100, 117, 128, 152]. В основе патогенеза ДДМЖ лежит хроническая гиперэстрогения, имеющая сложную клиническую и гистологическую картину, что сильно затрудняет как диагностику, так и терминологическое обозначение диффузных процессов [7, 30, 54, 104].

В странах с высоким уровнем заболеваемости РМЖ высока распространенность и ДДМЖ, и наоборот. В России с середины 1980-х годов РМЖ занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости и смертности больных, и этот показатель неуклонно растет: за последнее десятилетие он вырос на 19,8 % [8, 26]. При этом ФКМ диагностирована у 50–60 % женщин [51].

1.4. Современные представления о влиянии эстрогенов на обмен липидов

Одной из самых частых причин инвалидизации и смертности женщин в постменопаузальном периоде являются сердечно-сосудистые заболевания.

Защитное влияние эстрогенов на обмен липидов происходит за счет снижения содержания липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) вследствие увеличения числа печеночных рецепторов к ЛПНП. В результате этих процессов усиливается их катаболизм, снижается активность печеночной триглицеридлипазы, приводя к повышению уровня липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) [21, 37, 133]. Наличие в составе липопротеина (а) окисленных фосфолипидов предполагает его участие в запуске процесса воспаления в стенке сосуда или створках аортального клапана [91, 107]. Дислипидемия часто

возникает за счет гипоестрогении, развивающейся с наступлением менопаузы [20, 43]. Нарушения липидного обмена на фоне гипоестрогении встречаются примерно у 74 % женщин. Причем чем выше возраст пациенток, тем меньше тех, кто имеет нормальные показатели липидного профиля сыворотки крови [43, 70, 92, 119].

1.5. Клиническая картина фиброзно-кистозной мастопатии и современные представления о ее лечении

Клинические проявления ФКМ МолЖ весьма неспецифичны. Многие женщины не предъявляют каких-либо жалоб, однако при активной беседе жалуются на болезненные ощущения различного характера и интенсивности: масталгию (синоним – мастодиния), ощущение увеличения объема МолЖ, отечность, уплотнения в МолЖ. Возможно появление зеленовато-опалесцирующих или серозных выделений из соска или обоих сосков.

Мастопатия встречается у большинства пациенток с ФКМ. Женщины без мастодинии и имеющие маловыраженную и непродолжительную мастодинию с отсутствием физикальных изменений в МолЖ также могут подвергаться риску развития РМЖ (1,2–6,7 %). При более выраженных и продолжительных болевых ощущениях риск РМЖ возрастает [18, 27, 129, 143, 166].

Современные представления о лечении ФКМ включают в себя немедикаментозную, медикаментозную терапию, а также хирургическое вмешательство.

1. *Немедикаментозная терапия.* С целью купирования масталгии часто используются релаксирующие тренировки для пациенток, а также психологическую коррекцию [90, 132, 157]. С целью повышения эффекта от лечения масталгии следует подбирать комфортный бюстгалтер, который эффективно поддерживает МолЖ [58, 103, 121, 164]. Также следует ограничить или исключить продукты питания, содержащих метилксантины, ограничить потребление животных жиров [32, 96, 111, 113].

2. *Медикаментозное лечение.* Пациенткам с ФКМ и масталгией с целью купирования болевого синдрома и регресса патологических процессов в МолЖ рекомендовано использование лекарственных средств на основе витекса священного [53, 110, 187]. Также можно использовать препараты на основе микронизированного прогестерона** (по АТХ – прогестагены) [27, 37, 69, 99, 138, 164], лекарственные средства на основе индолкарбинола [24, 25, 29, 52, 61, 65, 68, 74], антигонадотропинов [69, 93, 103, 132].

При высоком риске развития РМЖ у пациенток с ФКМ в качестве второй линии терапии могут быть использованы антиэстрогены #Тамоксифен** [9, 69, 103] и селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов [16, 37, 59, 93, 99]. При лечении ФКМ возможно применение нестероидных противовоспалительных препаратов для коррекции болевого синдрома [50, 69, 75, 94, 109, 163].

Менее изученными в лечении ФКМ являются лигнаны. Наиболее известными из них – секоизоларицирезинол, матаирезинол, пинорезинол, ларицирезинол и другие соединения. Одним из источников получения лигнанов является льняное семя, которое содержит их в достаточно высоких концентрациях, но в виде глюкозилированных производных.

3. *Хирургическое лечение.* Определение показаний и противопоказаний к применению хирургических методов лечения при ФКМ является компетенцией врача-онколога [38, 68].

1.6. Резюме к главе 1

По определению ВОЗ (1984), мастопатия – это фиброзно-кистозная болезнь, характеризующаяся *нарушением соотношений эпителиального и соединительнотканного компонентов*, широким спектром пролиферативных и регрессивных изменений тканей.

В перипостменопаузальном периоде отмечается нестабильность темпа деления клеток репродуктивной системы, возрастает риск возникновения опухолей МолЖ, яичников, рака толстого кишечника, лёгких и т. д.; повышается

уровень неспецифического системного воспаления, связанного не только с опухолями, но и с сердечно-сосудистыми заболеваниями и цереброваскулярной патологией МолЖ [2, 11, 35, 60, 162].

Приём лигнанов растительного происхождения, характеризующихся крайне низкой токсичностью *per os*, является перспективным направлением проведения профилактики ФКМ.

Результаты проведенного нами систематического анализа исследований указали на специфические противовоспалительные (ингибирование белка NF-κB, повышение экспрессии ферментов антиоксидантной защиты супероксиддисмутазы и гемоксигеназы-1) и противоопухолевые свойства лигнана 7-ОН-МР (препарат «Лигнариус») (ингибирование роста гепатомы, опухолей МолЖ, матки, предстательной железы и аденоматозной полипозной кишечной неоплазии), обусловленные нормализацией темпа деления клеток.

Таким образом, молекула 7-ОН-МР является перспективной для изучения эффектов при проведении химиопрофилактики рака в периклимактерии и для адьювантного сопровождения терапии эстрогенсодержащими препаратами. Изучение возможности применения 7-ОН-МР – лигнана, выделенного из ели сибирской, в лечении ФКМ у пациенток в постменопаузальном периоде ранее не проводилось. Выявлению клинико-фармакологических эффектов 7-ОН-МР и посвящена наша работа.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Организация работы и объем исследований

Работа выполнена на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ивановский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ректор – доцент, доктор медицинских наук И. В. Иванова), хемореактомный и хемотранскриптомный анализ молекул проводился в сотрудничестве с ФИЦ ИУ РАН г. Москва, лабораторные исследования проведены в сотрудничестве с МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России г. Обнинск, клинικο-диагностических лабораториях «СИТИЛАБ» г. Москва, научно-лабораторном комплексе CHROMOLAB г. Москва.

Применен метод хемоинформатики, основанный на принципах современной информатики. В работе использован хемореактомный анализ для оценки биологических активностей исследуемой молекулы.

Проведен сравнительный хемореактомный анализ молекул 7-ОН-МР и контрольных молекул (17-эстрадиол, фитоэстроген β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат).

Для использования хемоинформационных методов анализа были применены математические расчеты, основанные на комбинаторной теории разрешимости (КТР) [20, 39, 71, 73, 180, 182, 184].

Детально математические основы хемореактомного и хемотранскриптомного анализа описаны в работах [182, 183, 185, 188], а используемые математические методы (включая КТР) – в работах [180, 181, 184]. Вкратце, в рамках КТР χ -графы – суть объекты, их инварианты – признаки. В работе [183] доказаны теоремы соотношений *полноты инвариантов и КТР-критерия разрешимости/регулярности*, что соответствует формуле (1):

$$(1) \quad \forall_{a,b \in \text{Pr}} \text{iso}(a) \neq \text{iso}(b) \Rightarrow \exists_{i=1..|\chi|} i: \hat{i}[i]\chi(a) \neq \hat{i}[i]\chi(b),$$

где $\text{Pr} \subset I_n \times I_k$ – множество хемографов, I_n – множество описаний начальных хемографов в виде векторов $\hat{i}\chi$, I_k – множество значений прогнозируемой (таргетной переменной), $\text{iso}(G)$ – метка изоморфности графов в I_k , χ – множество хемоинвариантов – цепей ковалентно связанных атомов молекулы, $\hat{i}\chi$ – список инвариантов (кортеж-инвариант). На основании (1) по формуле (2) вычисляется характеристическая функция $T(\alpha)$ [177], определяющая множество используемых хемоинвариантов χ (т. е. структурных фрагментов органических молекул-кандидатов):

$$(2) \quad T(\alpha) = \begin{cases} 1 & \text{если } \exists_{a,b \in \text{Pr}} : (\hat{i}[\alpha]\chi(a) \neq \hat{i}[\alpha]\chi(b)) \wedge (\forall k < \alpha \Rightarrow \hat{i}[k]\chi(a) = \hat{i}[k]\chi(b)) \\ 0 & \text{в противном случае} \end{cases},$$

где α – ранг информативности молекулярного фрагмента из списка χ [148].

Множество χ необходимо для вычисления расстояния d_χ между χ -графами по формуле (3):

$$(3) \quad d_\chi(X_1, X_2) = \frac{1}{|\chi|} \sum_{k=1}^{|\chi|} \omega_k \hat{i}[k]\hat{\beta}[X_1]\chi \oplus \hat{i}[k]\hat{\beta}[X_2]\chi,$$

где ω_k – настраиваемые веса хемоинвариантов (см. ниже).

Значения d_χ необходимы для поиска молекул, структурно схожих с 7-ОН-МР. Для этого вычисляются расстояния d_χ между молекулой-запросом (т. е. 7-ОН-МР) и всеми молекулами в базе данных, для которых известны значения оцениваемого параметра той или иной биологической активности (константы ингибирования таргетного белка, показателей генной транскрипции и др.). Затем проводится оценка значения параметра для молекулы-запроса, с этой целью выполняется построение эмпирической функции распределения (э. ф. р.) значений константы, затем её фильтрация посредством i -спектров с образованием непрерывной повсюду дифференцируемой функции, анализа

модальности (т. е. числа пиков) и вычисляются оценки биологических констант как математическое ожидание и дисперсия полученной э. ф. р.

Хемотранскриптомный анализ, разработанный в группе фармакоинформатики ФИЦ ИУ РАН с использованием новейших методов искусственного интеллекта для анализа «больших данных», позволяет получить дозозависимые оценки влияния 7-ОН-МР на транскрипцию 12 700 генов человека. В рамках настоящей работы хемотранскриптомное моделирование молекул было разработано для ОК в линии MCF-7 (PMЖ) при 6 концентрациях и временем воздействия молекул, равном одним суткам [73].

Результаты транскриптомных экспериментов в материале обучения (база данных GEO, Gene Expression Omnibus) представлены в виде таблиц.

С использованием оценок показателей изменений экспрессии молекулы при различных концентрациях строились графики, к которым прилагался регрессионный анализ и выявлялись статистически достоверные дозозависимые тренды. Для проведения системно-биологического анализа полученных результатов хемотранскриптомного моделирования применялся анализ функциональных взаимосвязей [73, 178].

Вторым этапом в эксперименте на мышах с опухолью Эрлиха (PMЖ) проводилась оценка эффективности консервативного лечения 7-ОН-МР (фармакологической субстанции класса лигнанов, рег. № RU.77.99.88.003.E. 010863.12.15 от 17.12.15). Исследования проведены на 74 аутбредных мышках-самках. Животные были получены из питомника ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, имели ветеринарный сертификат и прошли 20-суточный карантин в виварии МРНЦ им. А.Ф. Цыба. Исследования проведены на перевиваемой мышшиной карциноме Эрлиха (КЭ). Штамм поддерживался на аутбредных мышках-самках в виде асцитной карциномы. Трансплантацию солидной КЭ мышам-самкам проводили подкожным введением $2,5 \times 10^6$ ОК в 0,1 мл суспензии в область латеральной поверхности правого бедра, на которой предварительно депилировали шерстный покров. После трансплантации КЭ мышшей-опухоленосителей распределили методом рандомизации в пять

экспериментальных групп – контрольную и четыре подопытных, по 14–16 особей в каждой. Животных включали в опыт на пятые сутки после перевивки КЭ, когда опухолевый узел уже сформировался и достигал измеряемого размера практически у всех мышей. Животные контрольной группы в дальнейшем не получали никаких воздействий. Мышам первой опытной группы с 7-го по 21-й день роста солидной КЭ ежедневно однократно внутривенно (в/ж) вводили «Лигнариус» в дозе 60 мг/кг/сут. Особям второй подопытной группы – в дозе 120 мг/кг/сут. Животным третьей подопытной группы на 5-й и 6-й дни роста КЭ однократно в/ж вводили эстрадиолавалерат (0,51 мг/кг), и далее с 7-е по 21-е сутки роста опухоли проводили ежедневное в/ж введение комбинации эстрадиолавалерата и через 30 минут «Лигнариус» в дозе 120 мг/кг. Животным четвертой подопытной группы с 7-го по 21-й день роста опухоли ежедневно однократно в/ж вводили эстрадиолавалерат в дозе 0,51 мг/кг. Переносимость изучаемых препаратов оценивали по реакции животных на их введение и путем ежедневного осмотра и наблюдения за мышами, в процессе которого изучался неврологический статус по характеру спонтанной двигательной активности, общей возбудимости и реакции на тактильные и звуковые раздражители, а также по пищевой активности животных и динамике прироста их массы тела [5].

Влияние препаратов на опухолевый процесс изучали по динамике роста солидной КЭ. Для этого на каждый 3–4-й день у всех животных измеряли калипером максимальный (L) и минимальный (W) диаметр опухолевых узлов и оценивали их объем в приближении, которое надежно коррелирует с данными магнитно-резонансной томографии. Влияние на развитие КЭ оценивали путем статистического сравнения объема опухолевых узлов в контрольной и подопытных группах на различных сроках наблюдения, а также при помощи статистического сравнения диаграммам выживаемости Каплана – Мейера и средней продолжительности жизни животных.

На третьем этапе обследовано 60 женщин постменопаузального периода в возрасте от 45 до 60 лет, обратившихся на прием к акушеру-гинекологу в

женские консультации № 3, 4, 6, 7 города Иваново в плановом порядке, а также наблюдающихся в ОБУЗ «Ивановский областной онкологический диспансер» с жалобами на болезненные уплотнения в области МолЖ. Из них у 40 (66,67 %) больных диагностирована ФКМ, у 20 (33,34 %) женщин изменений со стороны МолЖ не выявлено. В основную группу вошли 40 пациенток, предъявлявших жалобы на дискомфорт или болезненность, уплотнения в области обеих МолЖ, а также по результатам биопсии ткани МолЖ с последующим гистологическим подтверждением у них ФКМ (N 60 по МКБ-10). В группу контроля включены 20 женщин, не имевших изменений со стороны МолЖ.

Всем 60 пациенткам (группа ФКМ и группа контроля) на первом этапе выполнено комплексное обследование: сбор анамнеза, клинико-инструментальные и лабораторные исследования, гинекологическое обследование. В качестве объектов исследования была венозная кровь, суточная моча. Забор крови из вены проводили утром натощак (8:00–10:00). Сбор суточной мочи пациентками проводился самостоятельно в течение суток согласно правилам СОП. Проведена оценка содержания метаболитов эстрогенов (16а-ОНЕ1, 2-ОНЕ2, 2-ОНЕ1, 2-ОМЕ1, 4-ОМЕ2, 4-ОНЕ1, соотношение 2-ОНЕ1/16а-ОНЕ1, 2-ОНЕ1/2-ОМЕ1, 4-ОНЕ1/4-ОМЕ1) в суточной моче, изучены особенности липидного спектра (ЛПНП, ЛПВП, ЛПОНП), выполнены тесты для определения менопаузального индекса Куппермана, УЗИ МолЖ, маммография, консервативное лечение 7-ОН-МР. Биологически активную добавку женщины принимали согласно рекомендации по применению: по 60 мг/сут (2 капс., 1 капс. – 30 мг) после завтрака, запивая достаточным количеством воды. В динамике через месяц после терапии проведена оценка клинического состояния, а также определено содержание метаболитов эстрогенов (16а-ОНЕ1, 2-ОНЕ2, 2-ОНЕ1, 2-ОМЕ1, 4-ОМЕ2, 4-ОНЕ1, соотношение 2-ОНЕ1/16а-ОНЕ1, 2-ОНЕ1/2-ОМЕ1, 4-ОНЕ1/4-ОМЕ1 в суточной моче, липидный спектр (ЛПНП, ЛПВП и ЛПОНП). Через три месяца повторно выполнены тесты для определения менопаузального индекса Куппермана. Через три и шесть месяцев проведено контрольное УЗИ МолЖ.

УЗИ МолЖ проводили на ультразвуковом диагностическом аппарате «Samsung WS80A-Rus» (Южная Корея) и «Orion Philips» (США) с использованием датчика с рабочей частотой 7,5 МГц. МолЖ исследовали в продольном и поперечном сечениях и оценивали по системе BI-RADS. Рентгенологические диагностические исследования стационарным комплексом «МЕДИКС-Р-АМИКО» вариант исполнения 3 (Россия).

Для диагностики и оценки степени тяжести проявления климактерического синдрома (КС) использовался постменопаузальный индекс Куппермана в модификации Е. В. Уваровой (1983), который рассчитывается по результатам анализа вегетативных, метаболических и психоэмоциональных изменений в период менопаузы. Каждый из симптомов оценивался в баллах от 0 до 3 в зависимости от степени выраженности. При результатах до 10 баллов – клинические проявления отсутствуют, 10–20 баллов – слабая степень, 21–30 баллов – средняя степень, выше 30 баллов – тяжелая форма. Степень тяжести вазомоторных симптомов оценивалась по количеству приливов в сутки: менее 10 раз – легкое течение, 10–25 раз – среднее, более 25 раз – тяжелое.

Выраженность масталгии также оценивалась в баллах (от 0 до 10): 0 баллов – отсутствие болезненности, 1–3 – слабая болезненность, 4–6 – умеренно выраженная болезненность, 7–10 баллов – выраженная болезненность в МолЖ.

Критериями включения в основную группу были женщины в возрасте 50–60 лет, страдающие ФКМ.

Критерии исключения пациенток из исследования: больные ФКМ, отказавшиеся от участия в исследовании. Женщины с заболеваниями щитовидной железы, онкологическими заболеваниями других систем.

2.2. Методы исследования

Хемореактомный анализ молекул 7-гидроксиматаирезинола, 17-эстрадиола, фитоэстрогена β -ситостерола и полифенола эпигаллокатехин-3-галлата проводился в сотрудничестве с ФИЦ ИУ РАН, как описано в работе [67, 77].

Хемореактомный анализ позволяет оценить фармакологические свойства молекул на основании их химических структур. Анализ проводится посредством сравнения химической структуры исследуемой молекулы со структурами миллионов других молекул, для которых молекулярно-фармакологические свойства уже были изучены в экспериментальных и клинических исследованиях. «Обучение» соответствующих алгоритмов искусственного интеллекта проводилось с многоуровневым контролем качества «обучения» в рамках «скользящего контроля» по топологической теории распознавания в применении к анализу хемографов (особых математических конструкций, используемых для описания молекул) [185, 186].

Все клинические исследования проводились после утверждения этическим комитетом ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ Минздрава России, получения информированного согласия и одобрения пациенток.

Уровень метаболитов эстрогенов и их соотношения в суточной моче (16a-OHE1, 2-OHE2, 2-OHE1, 2-OMeE1, 4-OMeE2, 4-OHE1, соотношение 2-OHE1/16a-OHE1, 2-OHE1/2-OMeE1, 4-OHE1/4-OMeE1) определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией на следующем оборудовании: газовом хроматографе с масс-детектором МаэстроAgilent GC-7820A/5975 MSD (Россия) и жидкостном хроматографе с масс-спектрометрическим детектором Shimadzu 8040 (Япония). Методика выполнения разработана и валидирована в лаборатории «Хромолаб».

Определение липидного спектра проводилось на базе автоматизированной модульной платформы RocheCobas8000 с биохимическим модулем c702, RocheDiagnostics (Швейцария).

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных проводилась по общепринятым методам статистики после проверки рядов на нормальность распределения в пакете прикладных лицензионных программ Microsoft Office 2010, Statistica

for Windows 13.0. Проверка рядов данных на нормальность распределения осуществлялась с применением критериев Колмогорова и Шапиро – Уилка. Относительный риск (ОР) рассчитывали с 95% ДИ в программе «OpenEpi». Поиск точки разделения и расчет чувствительности, специфичности проводился на основании построения кривой операционных характеристик (ROC-анализ) с использованием программы MedCalc.

Статистическую оценку значимости межгрупповых различий объемов опухолевых узлов КЭ проводили с использованием универсального метода непараметрической статистики – критерия Колмогорова – Смирнова. Статистическое сравнение диаграмм выживаемости проводили по F-критерию Кокса. Расчеты выполнены с помощью программного пакета Statistica 7.0 (StatSoft Inc., США).

Степень достоверности и апробация полученных результатов

Статистика данных проводилась путем экспертизы рядов на «нормальность распределения» по критериям Колмогорова и Смирнова, Лиллифорса – Шапиро – Уилка. Если распределение данных соответствовало нормальному, то рассчитывалась величина (M) и стандартная ошибка (m), статистическая значимость определялась по t-критерию Стьюдента при $p < 0,05$. При несоответствии распределения количественных признаков закону нормального распределения данные представлялись в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (25-75 процентиль); статистическая значимость считалась с помощью непараметрических критериев Колмогорова и Смирнова, Манна – Уитни и Вальда – Вольфовица ($p < 0,05$). Связанные между собой показатели оценивались по парному критерию Вилкоксона.

Выявление взаимосвязи между изучаемыми параметрами осуществлялась путем расчета коэффициента корреляции Спирмена.

Для оценки диагностических критериев ФКМ рассчитывали относительный риск (ОР) с 95% доверительным интервалом (ДИ 95%). Статистический анализ осуществлялся в пакете прикладных лицензионных программ MicrosoftOffice 2010, OpenEpi, Statistica for Windows 13.0, MedCalc.

**Глава 3. ХЕМОРЕАКТОМНЫЙ АНАЛИЗ СВОЙСТВ
7-ГИДРОКСИМАТАИРЕЗИНОЛА, 17-ЭСТРАДИОЛА,
ФИТОЭСТРОГЕН В-СИТОСТИРОЛА
И ЭПИГАЛЛОКАТЕХИН-3-ГАЛЛАТА.
ХЕМОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЫ
7-ГИДРОКСИМАТАИРЕЗИНОЛА**

3.1. Введение

7-гидроксиматаирезинол, являющийся одним из основных компонентов экстрактов лигнанов из ели обыкновенной (*Picea abies*), характеризуется антиоксидантными, противоопухолевыми и противовоспалительными свойствами [25, 56, 57, 72, 76, 81, 122]. Считается, что 7-ОН-МР может проявлять, в частности, и свойства фитоэстрогенов, хотя имеющиеся данные несколько противоречивы [112].

В целом, результаты экспериментальных и клинических исследований указали на перспективность 7-ОН-МР как противовоспалительного и противоопухолевого средства. Однако молекулярные механизмы осуществления этих и других возможных фармакологических эффектов 7-ОН-МР не вполне изучены. Для оценки свойств 7-ОН-МР нами было проведено сравнительное исследование с контрольными молекулами (17-эстрадиол, фитоэстроген β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат).

Хемореактомное моделирование было использовано нами для оценки молекулярных механизмов осуществления фармакологических эффектов 7-ОН-МР: противовоспалительных (ингибирование 5-липоксигеназы, матриксной металлопротеиназы MMP2, митоген-активируемой киназы p38-альфа, рецептора лейкотриена b4, рецептора простаглицлина), противоопухолевых (антиоксидантный эффект за счёт ингибирования гемоксигеназы-2, ингибирование циклин-зависимых киназ 3 и 4, фактора роста эпидермиса, белка mTOR), вазодилаторных (ингибирование адренорецепторов и

ренина), антибактериальных и противовирусных (ингибирование вирусных протеаз 3C) свойств молекулы 7-ОН-МР.

3.2. Результаты хемореактного моделирования свойств 7-гидроксиматаирезинола в сравнении с контрольными молекулами (17-эстрадиол, фитоэстроген β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат)

Нами получены результаты моделирования свойств 7-ОН-МР в сравнении с контрольными молекулами (молекулами сравнения: 17-эстрадиол, фитоэстроген β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат), а также результаты сравнительного хемореактного анализа молекулы 7-ОН-МР с контрольными молекулами (17-эстрадиол, фитоэстроген β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат) (рис. 2).

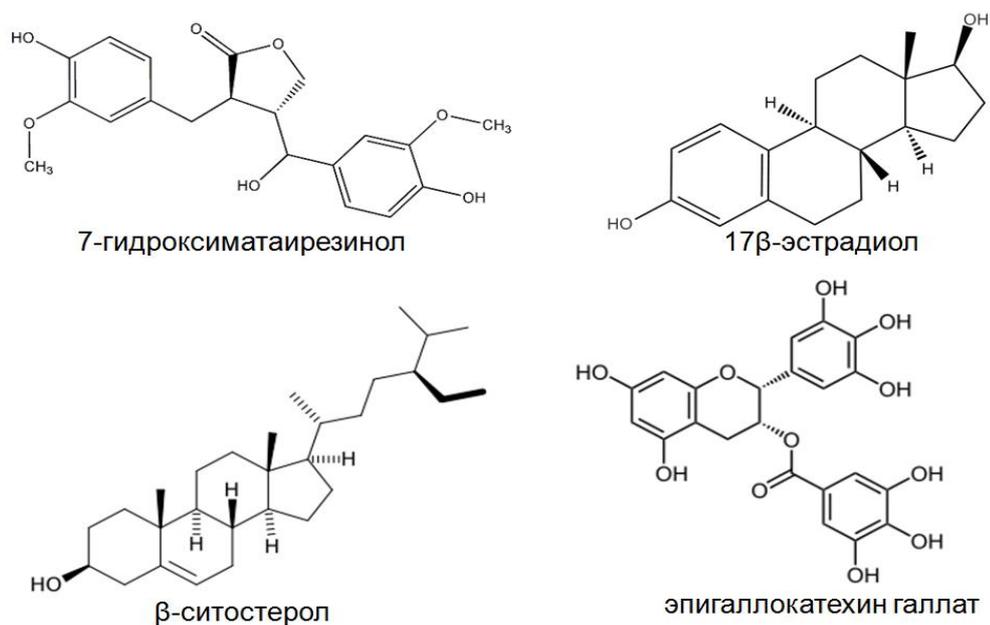


Рисунок 2 – Химические формулы исследованных молекул

На первом этапе хемоинформационного анализа с использованием расстояния d_x мы установили список наиболее близких к 7-ОН-МР химических структур. На втором этапе для каждой молекулы из баз данных были извлечены все имеющиеся данные экспериментального измерения различных биологических свойств этой молекулы и проведен хемореактный анализ.

Профиль сродства необходим для последующего экспертного анализа потенциальных позитивных и негативных эффектов исследуемой молекулы. Элементами множества I_n являются вектора $\hat{\chi}$, соответствующие бинарным или численным кортеж-инвариантам хемографов, обладающих свойством локальной полноты. При этом могут использоваться не только тупиковые кортеж-инварианты, полученные в результате комбинаторного тестирования локальной полноты (1, 2), но и кортежи большей мощности (например, включающие все виды элементарных хи-инвариантов, возможные для заданного словаря меток хемографа и найденные в исследованном множестве хемографов и т. д.). Элементами множества I_k являются векторы, соответствующие теоретико-множественным формам профилей сродства (квантильные, вероятностные, ранговые, бинарные).

После вычисления условий (1, 2) для каждого из свойств, для которого необходимо рассчитать значения соответствующей константы (константа связывания, константа ингибирования и др.), выбираются все схожие молекулы, для которых это свойство было измерено, и строится эмпирическая функция распределения значений константы. Представленные оценки значений различных констант были получены как математическое ожидание и дисперсия соответствующей эмпирической функции распределения, которая использовалась после соответствующей фильтрации посредством i -спектров с образованием непрерывной повсюду дифференцируемой функции и анализа модальности (т. е. числа пиков).

3.3. Результаты хемоинформационного сравнения химической структуры 7-гидроксиматаирезинола с молекулами в базе данных метаболома человека и с молекулами в базах данных лекарственных средств

С использованием метода хемоинформационного анализа нами было проведено сравнение химической структуры 7-ОН-МР с молекулами в базе

данных метаболома человека и с молекулами в базах данных лекарственных средств [177, 178].

В качестве модели метаболома человека нами использовали более 40 000 соединений, приведенных в базе данных метаболома человека HMDB (Human Metabolome Database) [118].

Нами были рассчитаны «химические расстояния» $d\chi$ от структуры молекулы 7-ОН-МР до структур всех молекул в модели метаболома. Гистограмма полученных расстояний (рис. 3) показывает, что число схожих с 7-ОН-МР молекул не превышает 20 при $d\chi < 0,2$ и начинает резко возрастать при $d\chi > 0,4$ так, что при $d\chi = 0,5$ и более число «схожих молекул» превышает 250. Таким образом, не более 150 молекул в базе данных HMDB можно считать действительно схожими с 7-ОН-МР: данные молекулы находились на сколько-нибудь приемлемом «химическом расстоянии» от 7-ОН-МР ($d\chi < 0,5$).

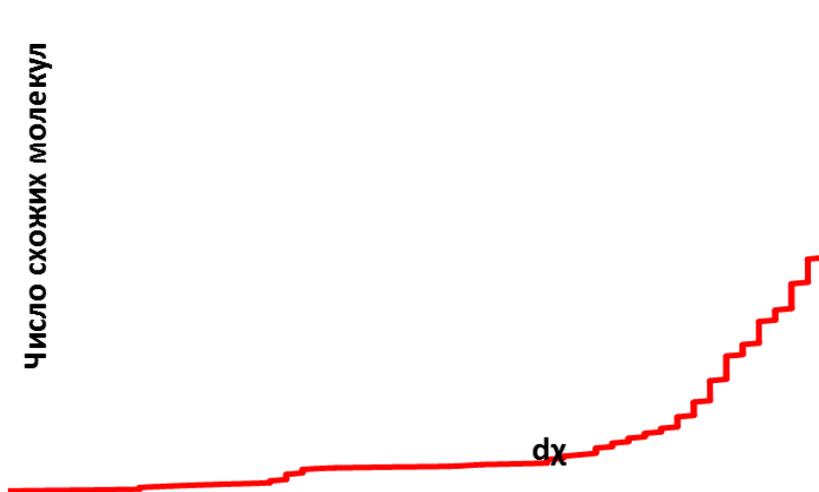


Рисунок 3 – Гистограмма чисел молекул, схожих с молекулой 7-гидроксиматаирезинола, на определенном «химическом расстоянии» $d\chi$ от молекулы 7-гидроксиматаирезинола

В результате использования порога $d\chi < 0,5$ был получен список из 139 молекул, наиболее близких к 7-ОН-МР по своей химической структуре. Для каждой из этих молекул из баз данных HMDB и PubChem были извлечены

текстовые описания и проведен анализ частоты встречаемости различных ключевых слов в этих описаниях (табл. 1).

Полученные результаты анализа ключевых слов показывают, что схожие с 7-ОН-МР молекулы в подавляющем большинстве случаев являются *компонентами различных растительных экстрактов*: фруктов (цитрусовые), лекарственных трав (шалфей, валерьяна, тысячелистник, полынь обыкновенная), чая, оливы и розмарина. Как известно, многие из этих растительных экстрактов используются в народной медицине и характеризуются *противовоспалительными, нейропротекторными, противоопухолевыми* свойствами.

Таблица 1 – Анализ частоты встречаемости ключевых слов в текстовых описаниях молекул, структурно схожих с молекулой 7-гидроксиматаирезинола

Термин	$\mu(d\chi)$	$\sigma(d\chi)$	$\nu(\text{терм})$
Фрукты	0,25	0,25	0,24
Перец	0,10	0,12	0,14
Лекарственные травы	0,30	0,25	0,12
Чай	0,35	0,17	0,11
Олива	0,20	0,11	0,11
Цитрусовые	0,23	0,10	0,11
Розмарин	0,34	0,14	0,06
Шалфей	0,27	0,17	0,06
Валерьяна	0,41	0,21	0,06
Тысячелистник	0,37	0,12	0,04
Полынь	0,29	0,14	0,04

Примечание. $\mu(d\chi)$ – среднее химическое расстояние; $\sigma(d\chi)$ – стандартное отклонение; $\nu(\text{терм})$ – относительная частота встречаемости соответствующего термина в исследованных описаниях молекул. Термины расположены по убыванию значения $\nu(\text{терм})$.

Анализ текстовых описаний молекул, схожих с 7-ОН-МР позволил выделить несколько десятков соединений, характеризующихся известной фармакологической активностью (табл. 2), где меньшие значения «химического

расстояния» между $d\chi$ соответствуют бóльшей структурной схожести между молекулой 7-ОН-МР и обсуждаемой молекулой.

Хемоинформационный анализ молекулы 7-ОН-МР показал, что схожие с 7-ОН-МР молекулы характеризуются противоопухолевым, антибактериальным, противовирусным, гепатопротекторным, противовоспалительным, вазодилатирующим, гиполипидемическим, антитромботическим, антиоксидантным, противодиабетическим и нейропротекторным эффектами (табл. 2). Приводимые далее результаты хемореактомного моделирования эффектов 7-ОН-МР подтверждают эти потенциальные свойства молекулы 7-ОН-МР.

Таблица 2 – Соединения, полученные в результате хемоинформационного поиска

$d\chi$	Молекула	Фармакологические свойства
0.08	Матаирезинол	Лигнан, агонист адипонектинового рецептора, липолитическое действие
0.08	Арктигенин	Лигнан, агонист адипонектинового рецептора, противовирусные, противоопухолевые свойства
0.10	Кубебининолид	Экстрагирован из перца <i>Piper cubeba</i> , противоопухолевое действие
0.16	Энтеролактон	Лигнан, формируется при действии микрофлоры кишечника на матаирезинол
0.16	Викстромол	Лигнан из <i>Pinus palustris</i> (сосна), гепатопротекция, противоопухолевое действие
0.18	Дегидроферуловый дилактон	Экстрагирован из клеточных стенок пшеницы и ячменя, противовоспалительное и гепатопротекторное действие
0.33	Джинджердиол-5-ацетат	Экстрагирован из имбиря (<i>Zingiber officinale</i>), противовоспалительное действие
0.33	Трахелозид	Лигнан <i>Carthamus tinctorius</i> (дикий шафран), противоопухолевое действие
0.37	Сагериновая кислота	Экстракт <i>Salvia officinalis</i> (шалфей), противовоспалительное действие

dx	Молекула	Фармакологические свойства
0.39	Латанопрост	Аналог простагландина, противовоспалительное, вазодилатация, снижение внутриглазного давления
0.41	Вульгарин	Экстракт <i>Artemisia</i> sp. (полынь), гипогликемическое действие
0.41	Олеацеин	Экстракт <i>Olea europaea</i> (олива), нейропротекторное действие
0.41	1,3-дикофеоилхининовая кислота	Экстракт <i>citrus reticulata</i> (мандарин), гепатопротекторное действие
0.42	Канренон	Метаболит спиронолактона, противоотечное действие
0.42	Диосульбин Н, F, D	Экстракт <i>Dioscorea bulbifera</i> (горький ямс), противовоспалительное, антибактериальное действие
0.44	Диметилфукиат	Эфир кумаровой кислоты, <i>Petasites japonicus</i> , антитромботический эффект
0.44	Правастатин	Гиполипидемическое средство, ингибитор HMG-CoA-редуктазы
0.45	Токоферсолан	Витамин E, антиоксидант
0.46	Карнозол	Дитерпен розмарина, антиоксидант, нейропротекция, синтез ФРН, активатор PPAR γ , противодиабетический эффект
0.47	Шалфехинонметид А	Экстракт <i>Salvia officinalis</i> (шалфей), противовоспалительное действие
0.48	1-альфа-ацевалтрат	Экстракт валерианы, анксиолитический эффект

3.4. Прогнозирование потенциальных фармакологических эффектов

7-гидроксиматаирезинола

3.4.1. Взаимодействие 7-гидроксиматаирезинола

с рецепторами нейротрансмиттеров

Результаты хемореакционного моделирования взаимодействий молекул с рецепторами нейротрансмиттеров показали, что 7-ОН-МР в значительно меньшей мере взаимодействует с ацетилхолиновыми и NMDA рецепторами, чем молекулы сравнения (табл. 3). Это позволяет предположить, что 7-ОН-МР не будет вмешиваться в ацетилхолиновую и глутаматную нейротрансмиссию.

Следовательно, 7-ОН-МР не будет оказывать негативного воздействия на процессы возбуждения-торможения в центральной нервной системе.

В то же время молекула 7-ОН-МР может в большей степени, чем молекулы сравнения, взаимодействовать с аденозиновыми рецепторами, оказывая слабый ингибирующий эффект. Например, значение константы ингибирования аденозинового рецептора А2 стриатальной мембраны мозга составило: $K_i = 3213 \pm 1101$ нМ и было гораздо выше для молекул сравнения ($K_i = 4392...7485$ нМ). Ингибирование аденозиновых рецепторов типа А1 и А2 в головном мозге будет иметь слабый тонический эффект, подобный эффекту кофеина (который является антагонистом аденозиновых рецепторов). Заметим, что хемоинформационный анализ указал на частичную схожесть структуры 7-ОН-МР с производными кофеиновой кислоты (см. табл. 2).

Таблица 3 – Результаты хемореактомного моделирования взаимодействий 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул с рецепторами нейротрансмиттеров

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
K_i	нМ	Связывание с аденозиновым рецептором А2 стриатальной мембраны мозга при использовании [3Н]CGS-21680 в качестве радиолиганда	3213	7485	4392	4559	1101
–	%	Связывание с аденозиновым рецептором А1 стриатальной мембраны мозга крыс при вытеснении лиганда [3Н]-R-PIA в концентрации 100 мкМ	16	7	8	12	11
–	%	Ингибирование связывания лиганда [3Н]-CGS 21680 аденозиновыми рецепторами А2 мозга крыс при концентрации 20 мкМ	38	18	17	37	33

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
IC50	нМ	Ингибирование мускариновых рецепторов ацетилхолина M2 в сердечной мембране крысы	4193	661	848	1795	1205
Ki	нМ	Сродство к сайту связывания глицина NMDA рецептора мембран головного мозга	1011	74	92	1011	895
–	нМ	Аллостерическая модуляция мускаринового рецептора ацетилхолина M1 при стимуляции клеток ацетилхолином	1111	82	257	256	1101
IC50	нМ	Ингибирование протеинкиназы С-дельта человека	159	282	281	232	120
–	%	Нейропротекторная активность в дозе 1 мкМ в клетках линии SH-SY5Y при воздействии H2O2	25	0	0	25	21
–	%	Устранение скополамин-индуцированного нарушения памяти у мышей при введении подкожно 0,16 мг/кг	27	0	0	0	20
–	%	Нейротрофическая активность через 48 часов воздействия в дорзальной ганглии цыпленка при сравнении с контролем	29	0.84	1.85	21	52

Примечание. Конст. – международное обозначение соответствующей константы биологической активности (если имеется); Ед. – единицы измерения константы; ЭСД – эстрадиол; СТС – ситостерол; ЭПКГ – эпигаллокатехин галлат; Ош. – ошибка в оценке полученного значения константы.

Результаты хемореактомного моделирования 7-ОН-МР также позволили сформулировать механизмы предполагаемого нейропротекторного действия этой молекулы. Заметим, что среди схожих с 7-ОН-МР молекул отмечаются молекулы с подтвержденным нейропротекторным действием (в частности, карнозол) (см. табл. 2).

Таким образом, хемореактомный анализ указал на возможность более выраженного ингибирования молекулой 7-ОН-МР протеинкиназы С-дельта человека (см. табл. 3). Протеинкиназа С-дельта вовлечена в сложные механизмы регуляции роста, апоптоза и дифференциации клеток различных типов, в т. ч. нейронов. Известно, что ингибиторы протеинкиназы С-дельта проявляют нейропротекторные и нейротрофические свойства [142].

Хемореактомное моделирование также подтвердило возможные нейропротекторные свойства молекулы 7-ОН-МР. В частности, спрогнозирована нейропротекторная активность в дозе 1 мкМ в клетках линии SH-SY5Y при воздействии H_2O_2 (+25 % выживания клеток, контрольные молекулы – 0...25 %) и нейротрофическая активность 7-ОН-МР в дорзальной ганглии цыпленка (+29 %, контрольные молекулы – 0.84...21 %) (см. табл. 3).

3.4.2. Прогнозируемые вазодилаторные эффекты 7-гидроксиматаирезинола

Результаты хемореактомного моделирования указали на возможные *вазодилаторные эффекты молекулы 7-ОН-МР* (табл. 4). По сравнению с результатами моделирования контрольных молекул 7-ОН-МР может проявлять значительно более выраженную вазодилаторную активность при ингибировании сокращения аорты крыс при воздействии норадреналином (на 42 %, контрольные молекулы – на 11...31 %), в моделях спонтанной гипертензии (на 25 %), соль-зависимой гипертензии (на 41 %) и др. При этом, по всей видимости, вазодилаторный эффект 7-ОН-МР не связан с модуляцией активности рецептора ангиотензина-II, т. к. вычисленное значение IC_{50} (т. е. концентрации, необходимой для 50%-ного ингибирования рецептора ангиотензина-II) было

существенно выше для 7-ОН-МР ($IC_{50} = 6214 \pm 3112$ нМ), чем для молекул контроля ($IC_{50} = 13...2314$ нМ). Возможным молекулярным механизмом прогнозируемых вазодилаторных эффектов 7-ОН-МР является ингибирование адренорецепторов и ренина (см. ниже результаты фармакопротеомного моделирования).

Таблица 4 – Результаты хемореактомного моделирования эффектов 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул на вазодилатацию

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош
Ki	нМ	Связывание с рецептором ангиотензина-II крыс	116	59	64	115	80
IC50	нМ	Концентрация, необходимая для 50%-го ингибирования рецептора ангиотензина-II	6214	14	13	2314	3112
–	%	Вазодилаторная активность в концентрации 100 мкМ как ингибирование сокращения аорты крыс при воздействии норадреналином	42	11	21	31	42
–	%	Снижение АД при пероральном приёме 135 мкмоль/кг у спонтанно гипертензивных крыс	25	11.7	15.7	14.4	16
–	%	Антигипертензивная активность в модели соль-зависимой гипертонии через 2 часа после приёма в дозе 50 мг/кг	41	22	22	27	6.3
EC50	нМ	Вазодилатация аорты крыс линии Вистара	328	896	896	2964	252

Окончание табл. 4

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош
–	%	Вазодилатация аорты морской свинки как ингибирование сокращения, индуцированного кальцием	26	7	17	15	23

Примечание. Конст. – международное обозначение соответствующей константы биологической активности (если имеется); Ед. – единицы измерения константы; ЭСД – эстрадиол; СТС – ситостерол; ЭПКГ – эпигаллокатехин галлат; Ош. – ошибка в оценке полученного значения константы.

3.4.3. Прогнозируемые противовоспалительные эффекты 7-гидроксиматаирезинола

Результаты хемореактомного моделирования указали на *противовоспалительные эффекты 7-ОН-МР*, обусловленные ингибированием окисления арахидоновой кислоты 5-липоксигеназой, матриксной металлопротеиназы ММР2 и митоген-активируемой киназы р38-альфа (табл. 5, рис. 4). Значение константы ингибирования 5-липоксигеназы было в несколько раз ниже для 7-ОН-МР ($IC_{50} = 213 \pm 169$ нМ), чем для молекул сравнения ($IC_{50} = 608...887$ нМ). Ингибирование синтеза провоспалительных простагландинов в каскаде арахидоновой кислоты действительно будет сопровождаться ингибированием развития отёка в каррагинановой модели отёка у крыс (7-ОН-МР – на 56 %, контрольные молекулы – 6.4...37 % (табл. 5)).

Интересным эффектом 7-ОН-МР является более выраженное по сравнению с контрольными молекулами ингибирование митоген-активируемой киназы р38-альфа МАРК14 ($IC_{50} = 261 \pm 292$ нМ, контрольные молекулы – 376...425 нМ). Известно, что р38-киназы МАРК11, МАРК12, МАРК13, МАРК14 участвуют в передаче сигнала от провоспалительных цитокинов. Поэтому ингибиторы р38 МАР-киназ (и, в частности, МАР-киназы р38-альфа, МАРК14) исследуются как потенциальные противовоспалительные средства [15].

Таблица 5 – Результаты хемореактомного моделирования противовоспалительных эффектов 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
Ki	нМ	Связывание с рецептором ангиотензина-II крыс	116	59	64	115	80
IC50	нМ	Концентрация, необходимая для 50%-го ингибирования рецептора ангиотензина-II	6214	14	13	2314	3112
–	%	Вазодилаторная активность в концентрации 100 мкМ как ингибирование сокращения аорты крыс при воздействии норадреналином	42	11	21	31	42
–	%	Снижение АД при пероральном приёме 135 мкмоль/кг у спонтанно гипертензивных крыс	25	11.7	15.7	14.4	16
–	%	Антигипертензивная активность в модели соль-зависимой гипертензии через 2 часа после приёма в дозе 50 мг/кг	41	22	22	27	6.3
EC50	нМ	Вазодилатация аорты крыс линии Вистара	328	896	896	2964	252
–	%	Вазодилатация аорты морской свинки как ингибирование сокращения, индуцированного кальцием	26	7	17	15	23

Примечание. Конст. – международное обозначение соответствующей константы биологической активности (если имеется); Ед. – единицы измерения константы; ЭСД – эстрадиол; СТС – ситостерол; ЭПКГ – эпигаллокатехин галлат; Ош. – ошибка в оценке полученного значения константы.

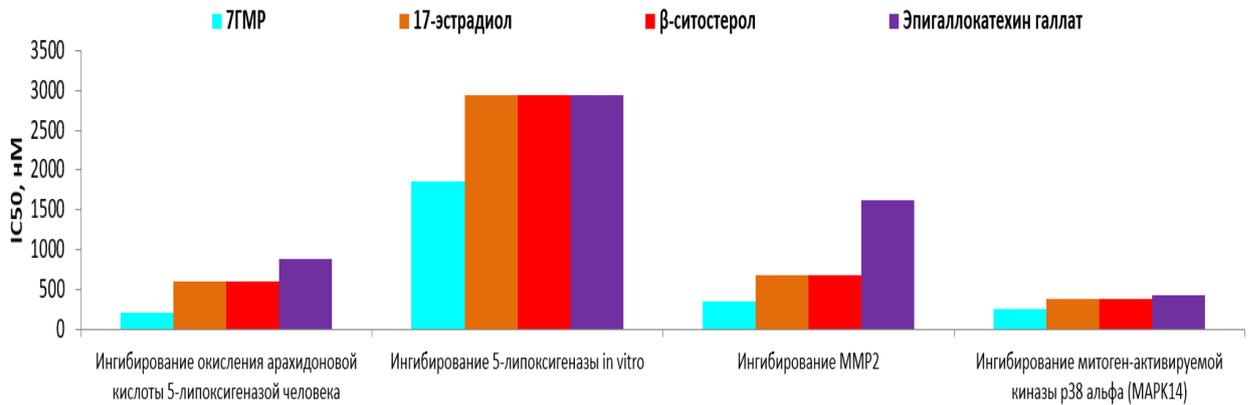


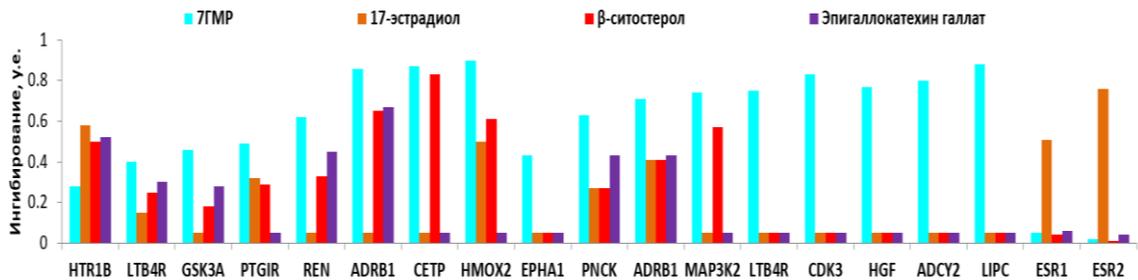
Рисунок 4 – Результаты хемореактного моделирования противовоспалительных эффектов 7-гидроксиматаирезинола и молекул сравнения

Для 7-OH-MP характерно ингибирование киназы MAPK14 ($IC_{50} = 261 \pm 292$ нМ, контрольные молекулы – 376...425 нМ). Известно, что MAP-киназы 11, 12, 13 и 14 участвуют в передаче сигнала от провоспалительных цитокинов, так что ингибиторы этих киназ – противовоспалительные средства [77].

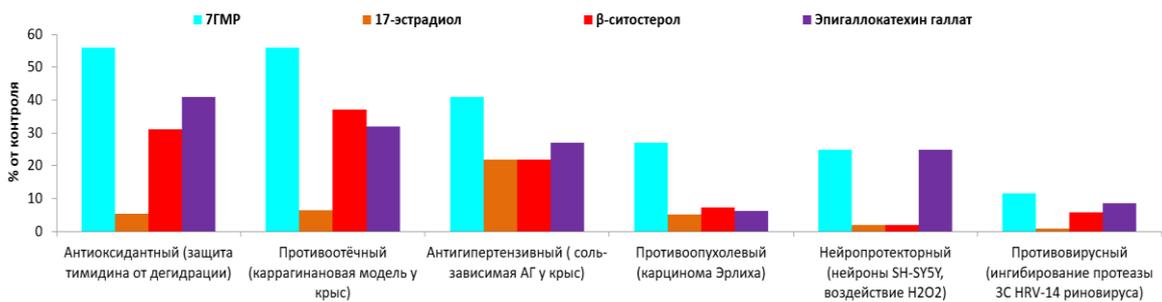
Фармакопротеомное моделирование (т. е. хемореактомные оценки взаимодействий молекул с белками протеома) показало, что 7-OH-MP может связываться с рецептором лейкотриена b4 (LTB4R, противовоспалительное действие), рецептором простаглицлина (PTGIR, противовоспалительное и вазодилаторное действие), прооксидантным ферментом гемоксигеназой-2. Высокие значения вероятности ингибирования были получены для циклин-зависимой киназы CDK3 (онкопротективное действие) и киназы MAP3K2 (онкопротективное действие) (рис. 5А). На рисунке 5Б представлены примеры сравнительных оценок различных фармакологических активностей 7-OH-MP, связанных с ингибированием перечисленных выше белков.

Противоспалительные эффекты 7-OH-MP могут способствовать увеличению продолжительности жизни модельных животных. На рисунке 5В представлены хемореактомные оценки эффектов воздействия молекул на продолжительность жизни червей *C. Elegans*, мух-дрозофил и мышей. Очевидно,

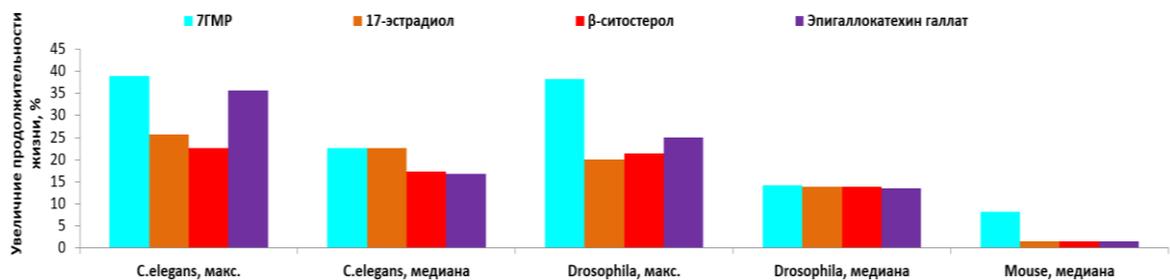
что среди исследованных молекул именно 7-ОН-МР (в меньшей степени, эпигаллокатехин галлат) способствовал увеличению максимальной продолжительности жизни у *C. Elegans* и дрозофил. Только 7-ОН-МР способствовал существенному увеличению медианной продолжительности жизни у мышей (+8 %).



А. Оценки вероятностей связывания отдельных белков



Б. Оценки фармакологических эффектов 7-ОН-МР и других молекул, в % от результатов контрольного эксперимента



В. Воздействие 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул на продолжительность жизни

Рисунок 5 – Фармакопротеомное моделирование 7-гидроксиматаирезинола (оценки вероятности связывания различных белков протеома.

Примечания: HTR1B – 5-гидрокситриптаминовый рецептор-1b; LTB4R – рецептор лейкотриена b4; GSK3A – гликогенсинтетаза киназа-3 альфа; PTGIR – рецептор простаглицлина; REN – ренин; ADRB1 – β 1-адренергический рецептор; CETP – белок-транспортер холестериновых эфиров; HMOX2 – гемоксигеназа-2; EPHA1 – эфриновый рецептор-1; PNCK – Ca-кальмодулин протеинкиназа 1b; ADRB1 – β 1-адренергический рецептор; MAP3K2 – митоген-активированная протеинкиназа 2; LTB4R – рецептор лейкотриена b4; CDK3 – циклинзависимая киназа 3.

Таким образом, хемореактомное моделирование указало на противовоспалительную активность 7-ОН-МР, осуществляемую по различным молекулярным механизмам. Экспериментальные исследования подтверждают этот результат. В моноцитах 7-ОН-МР дозозависимо ингибировал синтез/секрецию ФНО α , а в гранулоцитах – снижал уровни активных форм кислорода и провоспалительного IL-8 [184]. 7-ОН-МР приводил к снижению ФНО α -индуцированной адгезии моноцитов к эндотелиоцитам сосудов, снижению активации NF- κ B. 7-ОН-МР дозозависимо тормозил ФНО α -индуцированное фосфорилирование внеклеточной сигнально-регулируемой киназы 1/2 ERK (МАРК) и Akt, что важно для торможения роста ОК, повышал экспрессию ферментов антиоксидантной защиты [184].

3.4.4. Прогнозируемые противоопухолевые эффекты

7-гидроксиматаирезинола

Хемореактомное моделирование подтвердило *наличие у молекул 7-ОН-МР противоопухолевых эффектов* и позволило установить наиболее вероятные молекулярные механизмы осуществления этих эффектов (табл. 6). Моделирование показало более выраженный проапоптотический эффект в линиях ОК НСТ116 ($EC_{50} = 59$ нМ, контрольные молекулы – $EC_{50} = 972...1735$), в хроническом миелогенном лейкозе (клетки линии K562, увеличение апоптоза на 44 %, контрольные молекулы – только на 13...36 %), антиангиогенную активность в эмбрионах рыб *Danio rerio* (7-ОН-МР – 65 %, контрольные молекул

– не более 5,6 %) и торможение роста опухолей у мышей линии CF1, несущих КЭ, сопровождающуюся асцитом (на 27 ± 15 %, контрольные молекул – только на 5,1...7,3 %).

Хемореактомное моделирование подтвердило наличие у молекул 7-ОН-МР прямых онкопротективных эффектов и позволило установить наиболее вероятные молекулярные механизмы осуществления этого действия (рис. 6). Моделирование показало более выраженный проапоптотический эффект в ОК НСТ116 (колоректальный рак – $EC_{50} = 59$ нМ, контроль – $EC_{50} = 972...1735$ нМ), K562 (лейкемия миелоидная, увеличение апоптоза на – 44 %, контроль – 13...36 %), антиангиогенную активность (7(ОН)МР – 65 %, контроль – 5...6 %) и торможение роста опухолей у мышей с КЭ (на 27 ± 15 %, контроль – 5...7 %) [77].

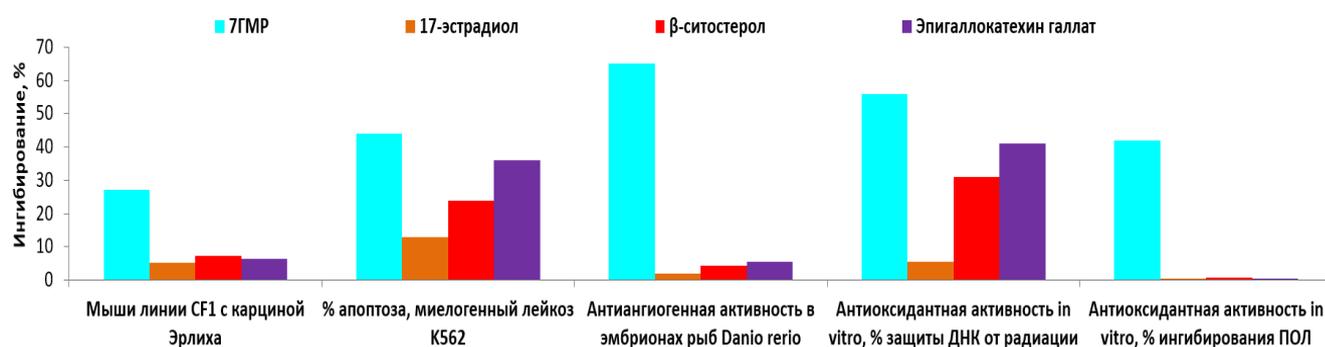


Рисунок 6 – Результаты хемореактомного моделирования онкопротективных эффектов 7-гидроксиматаирезинола

Примечание: ПОЛ – перекисное окисление липидов.

Результаты хемореактомного анализа показали, что 7-ОН-МР может ингибировать циклинзависимую киназу CDK4 ($K_i = 1427$ нМ, остальные – >3000 нМ), рецептор фактора роста эпидермиса (EGFR – $IC_{50} = 244$ нМ, остальные – 255...477 нМ), белка mTOR ($IC_{50} = 632$ нМ, остальные – >2000 нМ)[74]. Ингибиторы CDK4 используются в терапии опухолей [161], ингибиторы EGFR – в терапии рака лёгких и прямой кишки [141]. Ингибиторы mTOR – группа онкопротективных средств, также проявляющих

антигиперинсулинемические, противовоспалительные и геропротекторные свойства [155]. Таким образом, в результате хемотранскриптомного анализа выявлены онкопротективные эффекты 7-ОН-МР.

Возможные онкопротективные эффекты 7-ОН-МР, связанные с ингибированием белков протеома, также установлены в результате хемотранскриптомного анализа. Определение воздействия онкопротективных средств на транскриптом (т. е. совокупность мРНК всех генов, экспрессируемых в заданном типе клеток) – значимая процедура постгеномной фармакологии, необходимая для комплексной оценки желательных и нежелательных эффектов лекарств. Важной особенностью действия молекул-кандидатов на транскриптом является долговременность формируемых таким образом эффектов.

В результате проведения хемотранскриптомного анализа 7-ОН-МР влияние на экспрессию генов в клетках опухоли МолЖ (линия MCF7) было найдено для 27 % изученных генов (3468/12700). Лигнан 7-ОН-МР снижал экспрессию пролиферативных генов ($n = 401$), синтез и деградацию белка ($n = 266$), энергетический метаболизм ОК ($n = 91$) и хроническое воспаление ($n = 148$), повышая экспрессию генов онкопротективного иммунитета ($n = 100$). Примеры функциональных групп генов, транскрипция которых достоверно изменялась, представлены на рисунке 7.

Установленные изменения транскрипции важны для: (1) снижения интенсивности внутриклеточного гомеостаза белков (что косвенно снижает синтез АТФ), (2) прямого снижения обеспеченности ОК АТФ (снижение транскрипции генов, функционирующих в митохондриях), (3) ингибирования генов, непосредственно вовлечённых в пролиферацию (поддержание теломер, ремонт и репликация ДНК, деление клеток), (4) ингибирования каскада NF- κ B посредством предотвращения деградации белка I κ -B, ингибирующего NF- κ B, (5) повышения транскрипции онкопротективных генов. К белкам, кодируемым онкопротективными генами, относятся, в частности, интерферон-гамма (стимулирует апоптоз ОК), ферменты биосинтеза тиреоидных гормонов (ингибируют рост ОК линии MCF7) [190]),

рецепторные системы онкопротективных витаминов А, D и С (стимулирует апоптоз ОК MCF7 [89]) и др.

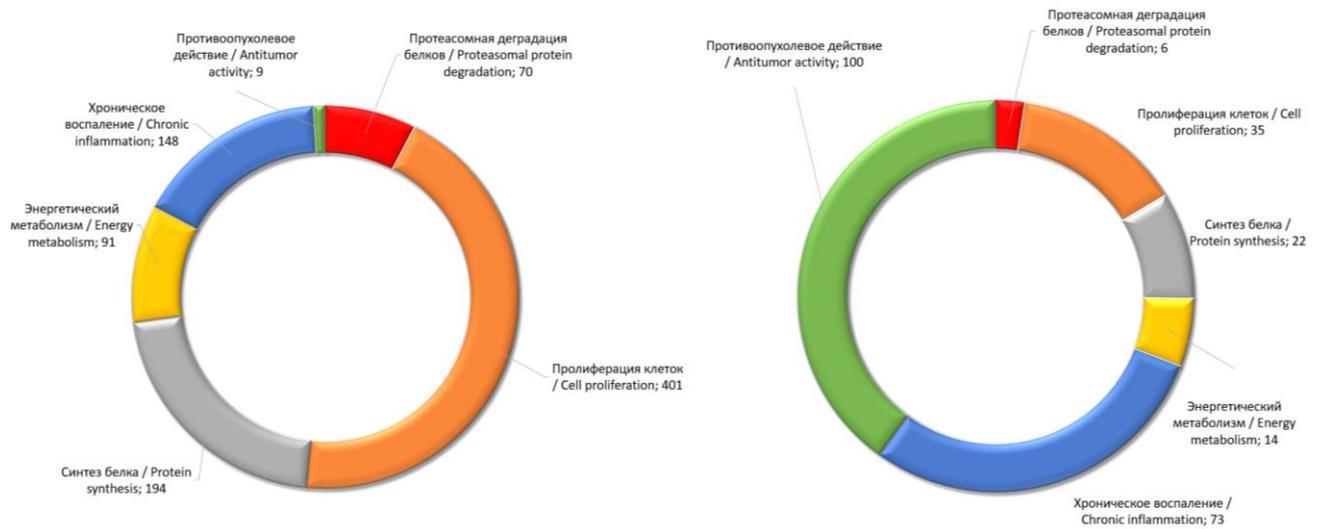


Рисунок 7 – Процентные соотношения встречаемости функциональных групп генов со сниженной (слева) и с повышенной (справа) транскрипцией при воздействии 7-гидроксиматаирезинола на онкоклетки линии MCF7 (по результатам хемотранскриптомного анализа)

В эксперименте онкопротективный эффект 7-ОН-МР наблюдался в дозе 5 мг/кг/сут [189]. Показано, что 7-ОН-МР и его метаболит энтеролактон уменьшают рост и метастазирование опухолей печени [122], предстательной железы [87], матки [97] и аденоматозной полипозной кишечной неоплазии [143]. Приём 30 мг/кг/сут 7-ОН-МР ингибировал рост опухолей МолЖ у крыс. 7-ОН-МР уменьшал образование полипов и предотвращал накопление β -катенина в ядре (патофизиологическая метка образования полипов) [63, 143] (табл. 6).

Противоопухолевое действие 7-ОН-МР связано не только с антиоксидантным эффектом молекулы (например, 7-ОН-МР подавлял ПОЛ на 42 %, а контрольные молекулы – не более чем на 1 %). Результаты хемотранскриптомного анализа показали, что 7-ОН-МР может ингибировать циклинзависимую киназу 4 ($K_i = 1427$ нМ, контрольные молекулы – более

3000 нМ), рецептор фактора роста эпидермиса (EGFR – IC50 = 244 нМ, контрольные молекулы – 255...477 нМ) и белка mTOR (IC50 = 632 нМ, контрольные молекулы – более 2000 нМ).

Таблица 6 – Результаты хемореактомного моделирования противоопухолевых эффектов 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул

Конст.	Ед	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
–	%	Противоопухолевая активность в дозе 5 мг/кг у мышей линии CF1, несущих КЭ с асцитом, как % снижения числа ОК	27	5.1	7.3	6.3	15
–	%	Процент апоптотической активности соединения в хроническом миелогенном лейкозе (клетки линии K562) при приёме в дозе 10 мкМ <i>in vitro</i>	44	13	24	36	33
EC50	нМ	Индукция апоптоза в человеческих клетках НСТ116, оцениваемая как активация каспазы-3 через 48 часов <i>in vitro</i>	519	972	972	1090	735
–	%	Антиангиогенная активность в эмбрионах рыб <i>Danio rerio</i> как ингибирование роста межсегментного сосуда при 3 мкг/мл с окрашиванием щелочной фосфатазой по сравнению с контролем	65	1.9	4.2	5.6	67

Конст.	Ед	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
-	%	Антиоксидантная активность <i>in vitro</i> как % защиты от дегидрации тимидина в геномной ДНК, индуцированной гамма-излучением	56	5.5	31	41	12
-	%	Антиоксидантная активность <i>in vitro</i> как % ингибирования ААРН-индуцированного перекисного окисления липидов при 100 мкМ	42	0.03	0.75	0.17	46
Ki	нМ	Ингибирование CDK4 человека (циклин-зависимая киназа 4) <i>in vitro</i>	1427	3140	3140	3140	640
IC50	нМ	Ингибирование рецептора фактора роста эпидермиса (EGFR) <i>in vitro</i>	244	477	345	255	1147
IC50	нМ	Ингибирование mTOR человека в клетках линии HEK293 <i>in vitro</i>	632	2416	2416	2455	1231

Примечание. Конст. – международное обозначение соответствующей константы биологической активности (если имеется); Ед. – единицы измерения константы; ЭСД – эстрадиол; СТС – ситостерол; ЭПКГ – эпигаллокатехин галлат; Ош. – ошибка в оценке полученного значения константы.

Ингибирование каждого из этих белков сопровождается выраженным противоопухолевым действием. В частности, *ингибиторы CDK4* (палбоциклиб и др.) уже используются в терапии опухолевых заболеваний, т. к. при многих из них отмечена повышенная активность CDK4 и других циклинзависимых киназ [161].

Повышенная активность рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) отмечена при различных видах опухолевых заболеваний – рак эпителия (до 80 % пациентов), опухолевые заболевания кишечника, лёгких [117]. *Ингибиторы EGFR* (гефитиниб, эрлотиниб, афатиниб и др.) используются в терапии рака лёгких, цетуксимаб – в терапии рака прямой кишки [141].

Белок mTOR представляет особенный интерес, т. к. ингибирование избыточной его активности связано не только с противоопухолевым действием, но и с геропротекцией (удлинением жизни модельных организмов). Данный белок был исходно найден как таргетный белок антибиотика рапамицина (англ. – *target of rapamycin*), также проявляющего выраженные противоопухолевые свойства. Избыточная активация сигнального пути mTOR вносит вклад в патофизиологию различных опухолевых заболеваний (аденому простаты, рака лёгких, мочевого пузыря, почек, меланомы и др.) [193].

Ингибиторы mTOR представляют собой быстро развивающуюся группу противоопухолевых средств. Кроме того, ингибиторы mTOR проявляют антигиперинсулинемические, противовоспалительные и геропротекторные свойства (т. е. способствуют удлинению продолжительности жизни модельных организмов) [156]. Заметим, что хемореактомное моделирование указало на более выраженную *гипогликемическую активность 7-ОН-МР*. Так, хемореактомная оценка параметра ED50 (т. е. концентрация в плазме крови, при которой отмечалось снижение уровня глюкозы в крови на 50 % после приёма внутрь) была существенно ниже в случае молекулы 7-ОН-МР (ED50 = 43 нМ), чем в случае контрольных молекул (ED50 = 141...207 нМ).

Таким образом, результаты хемореактомного анализа указывают на выраженные противоопухолевые свойства 7-ОН-МР, обусловленные ингибированием трёх таргетных белков: CDK4, EGFR и mTOR. Приводимые ниже результаты фармакопротеомного анализа указывают на очень низкую вероятность активации молекулой 7-ОН-МР эстрогеновых рецепторов. Поэтому сочетанное применение 7-ОН-МР и препаратов, непосредственно активирующих эстрогеновые рецепторы (эстрогенсодержащие оральные контрацептивы,

эстрогенсодержащие препараты для заместительной гормональной терапии в климактерии, при резекции яичников и др.) будет, вероятно, снижать риск гиперпролиферации, ассоциированной с приёмом эстрогенов.

3.4.5. Прогнозируемые антибактериальные и противовирусные эффекты молекулы 7-гидроксиматаирезинола

Результаты хемореактомного моделирования указали на достаточно широкий спектр возможных антибактериальных и противовирусных эффектов молекулы 7-ОН-МР (табл. 7). В частности, получены оценки антибактериальной активности 7-ОН-МР против стафилококков (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*), стрептококков (*Streptococcus pneumoniae*), синегнойной палочки (*Pseudomonas aeruginosa*), грибов (*Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis*, *Aspergillus fumigatus*), малярийного плазмодия (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium berghei*). Также оценены возможные противовирусные эффекты 7-ОН-МР (против протеазы 3С риновируса HRV-14 и протеазы 3С вируса гепатита А).

Интересно отметить, что среди схожих с 7-ОН-МР молекул были найдены компоненты экстрактов полыни обыкновенной (см. табл. 1), такие как, например, вульгарин (см. табл. 2). Известно, что экстракты полыни (в частности, полыни однолетней – *Artemisia annua*) характеризуются выраженными противомаларийными свойствами [102]. Более того, одно из наиболее перспективных противомаларийных средств, артемизин, было выделено именно из полыни однолетней. Хемореактомное исследование молекулы 7-ОН-МР указало на противомаларийную активность против *Plasmodium berghei* у мышей как увеличение среднего времени жизни при дозе 80 мг/кг (7-ОН-МР – на $1,18 \pm 0,9$ суток, контрольные молекулы – не более чем на 0,05 суток) и против хлорохинчувствительных штаммов *Plasmodium falciparum* (константа ингибирования $IC_{50} = 113 \pm 76$ нМ, контрольные молекулы – более 290 нМ).

Таблица 7 – Результаты хемореактомного моделирования антибактериальных и противовирусных эффектов 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул.

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
–	сут.	Противомалярийная активность против <i>Plasmodium berghei</i> , оценённая как увеличение среднего времени жизни мышей при дозе 80 мг/кг	1,177	0,04	0,05	0	0,9
–	%	Ингибирование протеазы 3С HRV-14 (риновирус человека)	11,65	0	5,82	8,58	5,7
–	%	Ингибирование протеиназы вируса гепатита А 3С при 1 мкМ, тест на микропланшете	57	24	27	54	53
МИС	мкг/мл	Антибактериальная активность против <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	0,67	1,79	14	0,75	6,1
IC50	нМ	Антималарийная активность против хлорохин-чувствительной <i>Plasmodium falciparum</i>	113	292	292	292	76
МИС	мкг/мл	Противогрибковая активность против <i>Candida albicans</i> UFPEDA-1007, 48 ч	20,4	50,6	34,9	24	5,2
–	–	Селективность, отношение CD50 к клеткам MRC5 человека к IC50 для <i>Plasmodium falciparum</i> FcB1	872	19	47	872	649

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
МІС	мкг/мл	Противогрибковая активность против <i>Candida krusei</i> , 24 ч	1,51	6,78	52,36	37	14
МІС	мкг/мл	Противогрибковая активность против <i>Aspergillus fumigatus</i> , 7 сут.	0,65	0,66	17,6	34,3	1,1
МІС	мкг/мл	Противогрибковая активность против <i>Candida parapsilosis</i> , 24 ч	1,56	2,82	2,83	12,1	2,0
МІС	мкг/мл	Антибактериальная активность против <i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,68	29,4	17,9	3,1	27
МІС	мкг/мл	Антибактериальная активность против <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11,7	26,4	20,4	13,1	22
МІС	мкг/мл	Антимикробная активность против <i>Candida krusei</i> 31, 48 ч	0,68	1,48	1,48	0,87	32
МІС	мкг/мл	Антибактериальная активность против <i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,43	1,56	1,56	1,2	8

Примечание. Конст. – международное обозначение соответствующей константы биологической активности (если имеется); Ед. – единицы измерения константы; ЭСД – эстрадиол; СТС – ситостерол; ЭПКГ – эпигаллокатехин галлат; Ош. – ошибка в оценке полученного значения константы.

Результаты хемореактомного моделирования *фармакокинетических и фармакодинамических эффектов* показали, что молекула 7-ОН-МР характеризуется большей стабильностью в организме, чем молекулы сравнения. На это указывает, в частности, более продолжительное время полувыведения $T_{1/2}$ ($1,74 \pm 0,42$ ч) и более высокая метаболическая стабильность в микросомах печени человека, оцененная как % соединения, остающегося не-

метаболизированным через 30 минут после введения (52 %, молекулы сравнения – 14...51 % (табл. 8).

Таблица 8 – Результаты хемореактомного моделирования фармакокинетических и фармакодинамических эффектов 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул

Конст.	Ед.	Активность	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ош.
T1/2	Ч	T1/2 у собак после пероральной дозы (1 мг/кг)	1,74	0,85	0,85	1,46	0,42
–	%	Метаболическая стабильность в микросомах печени человека как % соединения, оставшегося через 30 минут	52	15	14	51	32
IC50	нМ	Ингибирование калиевого канала ERG человека	558	103	164	191	8354
IC50	нМ	Ингибирование СУР3А4 с использованием диэтоксифлуоресцеина в качестве субстрата	2924	1518	1751	1894	2209

Примечание. Конст. – международное обозначение соответствующей константы биологической активности (если имеется); Ед. – единицы измерения константы; ЭСД – эстрадиол; СТС – ситостерол; ЭПКГ – эпигаллокатехин галлат; Ош. – ошибка в оценке полученного значения константы.

3.5. Фармакопротеомное моделирование 7-гидроксиматаирезинола

Информационная технология хемореактомного моделирования исследуемых молекул позволяет вычислять вероятности связывания, активации и ингибирования практически всех белков протеома человека (т. н. фармакопротеомное моделирование). *Фармакопротеомное моделирование* является *in silico* аналогом фармакопротеомных исследований, в ходе которых проводится определение уровней всех белков, экспрессируемых в исследуемых

клетках/тканях, а затем стимулирование клеток/тканей изучаемым веществом и отмечаются изменения уровней белков в сравнении с исходным состоянием.

Фармакопротеомное моделирование показало, что молекула 7-ОН-МР может связываться с рецептором лейкотриена b4 (LTB4R, противовоспалительное действие), рецептором простаглицина (PTGIR, противовоспалительное и вазодилаторное действие), ренином (REN, вазодилаторное действие), бета-1-адренергическим рецептором (ADRB1, вазодилаторное действие) и прооксидантным ферментом гемоксигеназой-2 (НМОХ2) (табл. 9). Возможность ингибирования была спрогнозирована для бета-1-адренергического рецептора (с вероятностью 0,71) и рецептора лейкотриена b4 (с вероятностью 0,75). Высокие значения вероятности ингибирования были получены для циклинзависимой киназы 3 (CDK3, противоопухолевое действие) и митоген-активированной протеинкиназы 2 (МАРЗК2, противоопухолевое действие).

Активация молекулой 7-ОН-МР фактора роста гепатоцитов, аденилатциклазы-2 и печеночной триацилглицериновой липазы соответствует гепатопротекторному эффекту, особенно в случае стеатогепатита. Важно отметить, что фармакопротеомное моделирование показало, что из четырёх исследованных молекул только 17-эстрадиол может активировать эстрогеновые рецепторы 1-го и 2-го типов (табл. 9). Все остальные анализированные молекулы, включая 7-ОН-МР, показали весьма низкие значения вероятности активации эстрогеновых рецепторов.

Примеры фармакологических активностей: антиоксидантная активность (% защиты от дегидрации тимидина в геномной ДНК, индуцированной гамма-излучением *in vitro*), противоотёчная активность (% ингибирования отёка при приёме в дозе 30 мг/кг *per os* в каррагинановой модели отёка у крыс), антигипертензивная активность (% снижения давления в модели сользависимой гипертензии через два часа после приёма в дозе 50 мг/кг), противоопухолевая активность (% снижения числа опухолевых клеток у мышей линии CF1, КЭ), нейропротекторная активность (% выживших клеток линии SH-SY5Y при воздействии H₂O₂), противовирусная активность (% ингибирования протеазы 3С риновируса HRV-14 человека) (рис. 8).

Таблица 9 – Вероятности активации и ингибирования 7-гидроксиматаирезинола и контрольных молекул различных белков протеома (фармакопротеомный анализ)

Ош.	7-ОН-МР	ЭСД	СТС	ЭПКГ	Ген	Белок
Связывание белков						
0,19	0,28	0,58	0,50	0,52	HTR1B	5-гидрокситриптаминовый рецептор-1b
0,03	0,40	0,15	0,25	0,30	LTB4R	Рецептор лейкотриена b4
0,04	0,46	0,00	0,18	0,28	GSK3A	Гликогенсинтетаза киназа-3 альфа
0,33	0,49	0,32	0,29	0,00	PTGIR	Рецептор простациклина
0,03	0,62	0,00	0,33	0,45	REN	Ренин
0,50	0,86	0,00	0,65	0,67	ADRB1	Бета-1 адренергический рецептор
0,13	0,87	0,00	0,83	0,00	CEPT	Белок-транспортер холестерина эфиров
0,07	0,90	0,50	0,61	0,00	HMOX2	Гемоксигеназа-2
Ингибирование белков						
0,38	0,43	0,00	0,00	0,00	EPHA1	Эфриновый рецептор-1
0,37	0,63	0,27	0,27	0,43	PNCK	Ca-кальмодулин протеинкиназа 1b
0,59	0,71	0,41	0,41	0,43	ADRB1	Бета-1 адренергический рецептор
0,44	0,74	0,00	0,57	0,00	MAP3K2	Митоген-активированная протеинкиназа 2
0,08	0,75	0,00	0,00	0,00	LTB4R	Рецептор лейкотриена b4
0,65	0,83	0,00	0,00	0,00	CDK3	Циклинзависимая киназа 3
Активация белков						
0,47	0,77	0,00	0,00	0,00	HGF	Фактор роста гепатоцитов
0,15	0,80	0,00	0,00	0,00	ADCY2	Аденилатциклаза-2
0,25	0,88	0,00	0,00	0,00	LIPC	Печеночная триацилглицериновая липаза
0,50	0,05	0,51	0,04	0,06	ESR1	Эстрогеновый рецептор 1
0,41	0,02	0,76	0,01	0,04	ESR2	Эстрогеновый рецептор 2

Примечание. Белки упорядочены в соответствии со значениями вероятности эффекта для 7-ОН-МР.

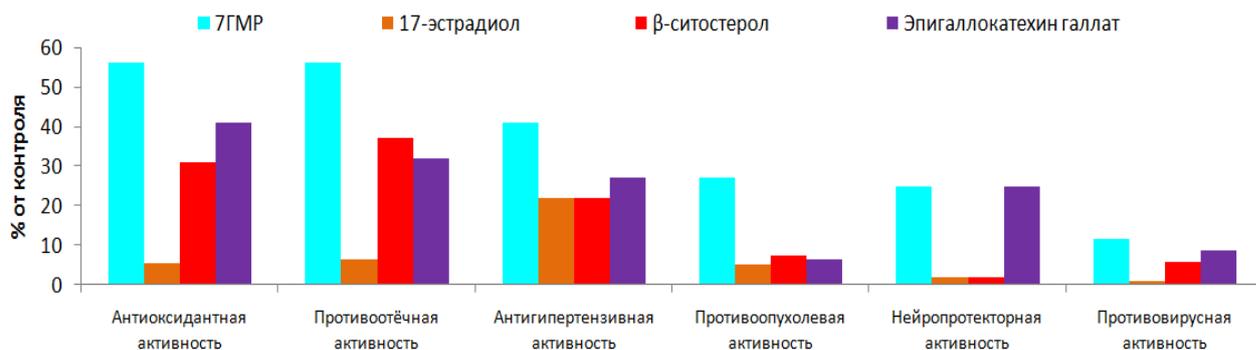


Рисунок 8 – Примеры оценок фармакологических активностей 7-гидроксиматаирезинола в сравнении с контрольными молекулами, полученные в результате хемотранскрипционного анализа, в процентах от контрольного эксперимента

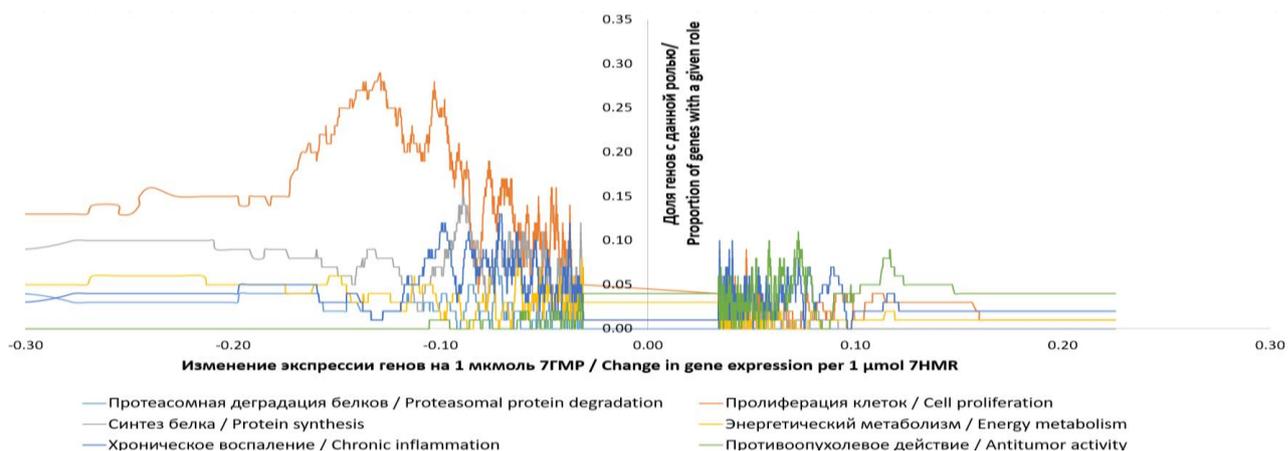
3.6. Результаты хемотранскрипционного анализа молекулы 7-гидроксиматаирезинола. Системно-биологический анализ

Списки генов со статистически значимым повышением или снижением экспрессии, которые были получены в результате применения описанного выше хемотранскрипционного подхода, анализировались посредством метода функционального связывания [178].

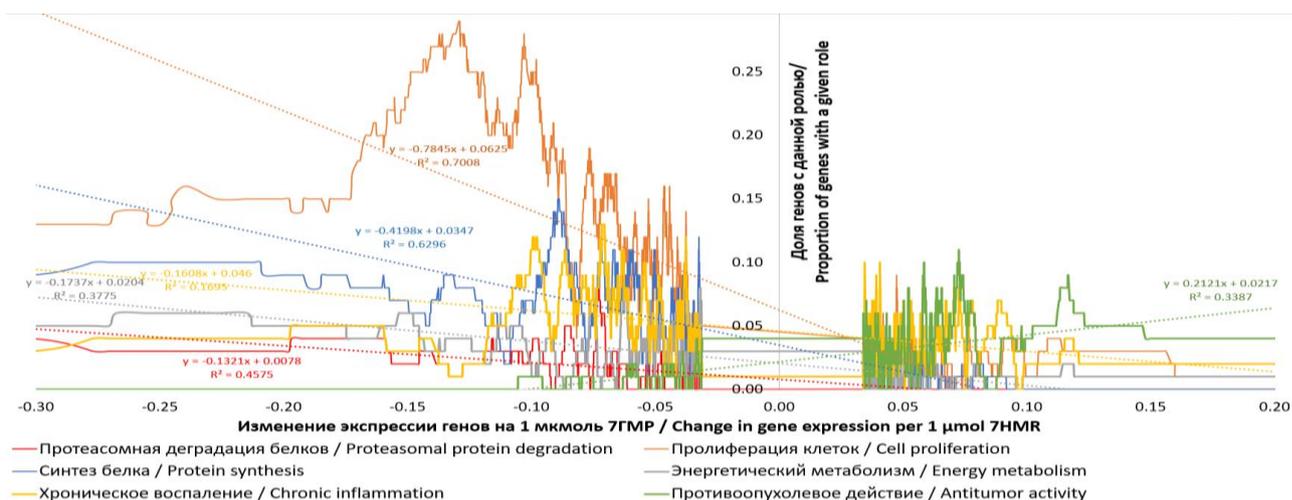
Хемотранскрипционный анализ эффектов молекулы 7-ОН-МР на транскриптом опухолевых клеток линии MCF-7 (24 ч инкубации) показал статистически значимые дозозависимые эффекты 7-ОН-МР на транскрипцию ($p < 0,05$ по t-тесту, коэффициент корреляции – более 0,50, изменение транскрипции – более 5 % на 1 мкмоль 7-ОН-МР). Статистически значимые изменения транскрипции были показаны для 3468 из 12 700 аннотированных генов человека: экспрессия 1387 генов снизилась («Список-»), а экспрессия 2081 гена повысилась («Список+»).

Для установления детальных закономерностей в группах генов, был проведен сравнительный системно-биологический анализ двух списков генов («Список-» и «Список+»).

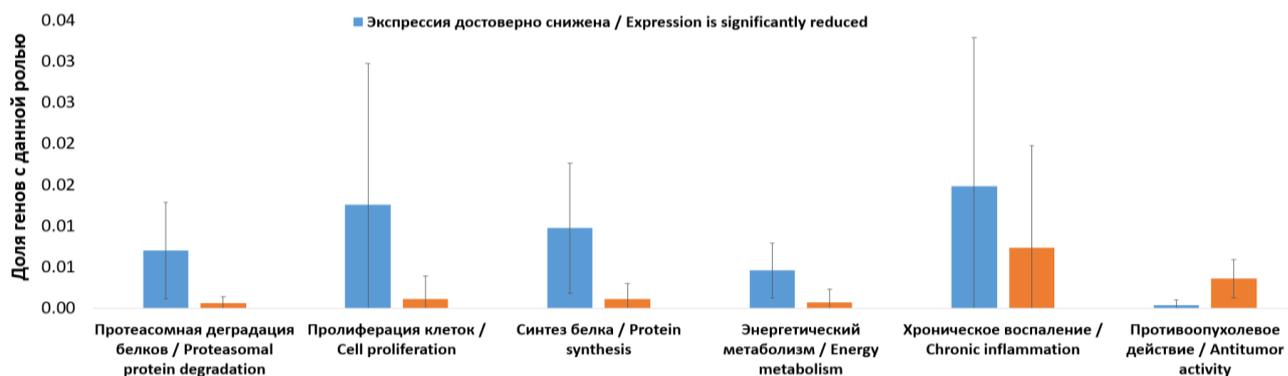
Хемотранскриптомное изучение воздействия молекулы 7-ОН-МР на клетки MCF-7 (при 24-часовой экспозиции клеток) позволило выявить существенные изменения транскрипции ($p < 0,05$ по t-тесту; $r = 0,50$; величина изменений – более 5 %/мкмоль 7-ОН-МР) для 3468 из 12 700 генов. При этом найдено снижение экспрессии («Список–») для 1387 генов и повышение экспрессии («Список+») для 2081 гена. Статистический анализ позволил выявить 56 GO-категорий функций 3468 генов, которые можно объединить в шесть групп, связанных с (1) деградацией белков на протеасомах, (2) процессами клеточной пролиферации, (3) рибосомальным биосинтезом белка, (4) поддержкой синтеза АТФ (энергетический метаболизм), (5) регуляцией вялотекущего системного воспаления и (6) собственно онкопротекторным действием (табл. 10, рис. 9А). Очевидно, что экспрессия генов систематически снижается во всех группах, кроме группы «Онкопротекторное действие», а частота встречаемости генов со сниженной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР («Список–») статистически значимо отличалась от таковой генов с повышенной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР («Список+»).



А



Б



В

Рисунок 9 – Частота встречаемости генов каждой из 6 функциональных групп, экспрессия которых дозозависимо изменяется при воздействии 7-гидроксиматаирезинола на клетки линии MCF-7 (по результатам хемотранскриптомного анализа). **А** – профили частоты встречаемости генов функциональных групп; **Б** – линейные аппроксимации профилей частот для наиболее выраженных зависимостей; **В** – попарное сравнение частот встречаемости генов шести групп.

Таблица 10 – Экспрессия генов по категории Международной номенклатуры Gene Ontology (GO)

Категория GO	Описание категории GO	n-	n+	p
<i>Протеасомная деградация белков</i>				
[GO:0000502]	Протеасомный комплекс / proteasome complex	34	1	$2,1 \cdot 10^{-8}$
[GO:0005839]	Ядро протеасомы / proteasome core	12	1	0,002244
[GO:0019787]	Убиквитиновая трансфераза / ubiquitin transferase	6	0	0,014233
[GO:0019773]	Альфа-субъединица протеасомы / proteasome alpha subunit	5	0	0,025256
[GO:0045732]	Усиление катаболизма белков / increased protein catabolism	13	4	0,028708
<i>Пролиферация клеток</i>				
[GO:0032201]	Поддержание теломер, полуконсервативная репликация / maintenance of telomeres, semi-conservative replication	34	0	$4,7 \cdot 10^{-9}$
[GO:0006297]	Ресинтез ДНК при ремонте ДНК / DNA resynthesis during DNA repair	23	0	$1,5 \cdot 10^{-6}$
[GO:0006303]	Ремонт двухконцевых обрывов ДНК / repair of double-ended DNA breaks	22	0	$2,5 \cdot 10^{-6}$
[GO:0006284]	Ремонт ДНК, вырезка поврежденных нуклеотидов / DNA repair, cutting out damaged nucleotides	17	0	$3,6 \cdot 10^{-5}$
[GO:0003678]	Активность ДНК хеликазы / DNA helicase activity	15	0	0,000104
[GO:0006362]	Транскрипция от промотора РНК-полимеразы I / transcription from the RNA polymerase I promoter	14	0	0,000178
[GO:0006361]	Инициация транскрипции от промоторов РНКазы-1 / transcription initiation from RNase-1 promoters	14	0	0,000178
[GO:0045739]	Позитивная регуляция репарации ДНК / positive regulation of DNA repair	12	0	0,000522
[GO:0000082]	G1/S переход при митозе / G1/S transition during mitosis	59	8	$3,3 \cdot 10^{-10}$
[GO:0051301]	Деление клеток / cell division	143	21	$2,3 \cdot 10^{-22}$

Категория GO	Описание категории GO	n-	n+	p
[GO:0000075]	Контрольная точка клеточного цикла / cell cycle checkpoint	6	0	0,014233
[GO:0007064]	Когезия сестринских хроматид при митозе / cohesion of sister chromatids during mitosis	6	0	0,014233
[GO:0035999]	Тетрагидрофолатная интерконверсия / tetrahydrofolate interconversion	5	0	0,025256
[GO:0031497]	Сборка хроматина / chromatin assembly	5	0	0,025256
[GO:0000723]	Поддержание теломер / maintenance of telomeres	22	6	0,002411
Синтез белка				
[GO:0070125]	Трансляция в митохондриях / translation in mitochondria	40	2	$3,8 \cdot 10^{-9}$
[GO:0000375]	Сплайсинг мРНК / mRNA splicing	14	0	0,000178
[GO:0005840]	Рибосома / ribosome	12	0	0,000522
[GO:0005681]	Сплайсеосомный комплекс / spliceosome complex	45	4	$3,8 \cdot 10^{-9}$
[GO:0030150]	Импорт белка в митохондриальный матрикс / protein import into the mitochondrial matrix	8	0	0,004637
[GO:0006458]	Фолдинг белков / protein folding	8	0	0,004637
[GO:0051131]	Шаперон-контролируемая сборка белковых комплексов / chaperone-controlled assembly of protein complexes	8	0	0,004637
[GO:0003755]	Пептидилпролил-цис-транс-изомераза / peptidylprolyl-cis-trans-isomerase	7	1	0,033717
[GO:0032543]	Митохондриальный синтез белка / mitochondrial protein synthesis	11	3	0,032206
[GO:0006412]	Трансляция (синтез белка) / translation (protein synthesis)	41	12	$6,1 \cdot 10^{-5}$
Энергетический метаболизм				
[GO:0005747]	Митохондриальный комплекс I дыхательной цепи / mitochondrial complex I of the respiratory chain	13	1	0,001315
[GO:0005750]	Митохондриальный комплекс III дыхательной цепи / mitochondrial complex III of the respiratory chain	7	0	0,008095

Категория GO	Описание категории GO	n-	n+	p
[GO:0045334]	Клатриновый эндоцитотический везикул / clathrin endocytic vesicle	7	0	0,008095
[GO:0006099]	Цикл трикарбоновой кислоты / tricarboxylic acid cycle	6	0	0,014233
[GO:0032981]	Дыхательная цепь-1 митохондрий / respiratory chain-1 mitochondria	16	3	0,002794
[GO:0006771]	Метаболизм рибофлавина / riboflavin metabolism	5	0	0,025256
[GO:0033864]	Повышение активности НАДФ-оксидазы / increased activity of NADP-oxidase	5	0	0,025256
[GO:0055089]	Гомеостаз жирных кислот / fatty acid homeostasis	4	0	0,045392
[GO:0045254]	Комплекс пируватдегидрогеназы / pyruvate dehydrogenase complex	4	0	0,045392
[GO:0055114]	Окислительно-восстановительный процесс / redox process	24	10	0,015898
<i>Хроническое воспаление</i>				
[GO:0033209]	Сигнальный путь TNF- α / TNF- α signaling pathway	34	5	$3,1 \cdot 10^{-6}$
[GO:0051059]	Связывание NF-kB / NF-kB binding	6	0	0,014233
[GO:0035722]	Интерлейкин-12-опосредованный сигнальный путь / interleukin-12-mediated signaling pathway	18	5	0,006558
[GO:0043312]	Дегрануляция нейтрофилов / neutrophil degranulation	90	59	0,009646
[GO:0030593]	Хемотаксис нейтрофилов / neutrophil chemotaxis	5	17	0,010304
[GO:0060337]	Сигнальный путь интерферона I / interferon I signaling pathway	2	9	0,034559
[GO:0051898]	Отрицательная регуляция протеинкиназы B / downregulation of protein kinase B	1	11	0,003839
[GO:0016525]	Отрицательная регуляция ангиогенеза / downregulation of angiogenesis	1	17	0,000157
[GO:0006590]	Генерация тиреоидных гормонов / generation of thyroid hormones	0	5	0,025256
[GO:0043303]	Дегрануляция тучных клеток / mast cell degranulation	0	4	0,045392

Категория GO	Описание категории GO	n-	n+	p
<i>Онкопротекторное действие</i>				
[GO:0042359]	Метаболизм витамина D / vitamin D metabolism	0	5	0,025256
[GO:0002523]	Миграция лейкоцитов при воспалительной реакции / migration of leukocytes during an inflammatory reaction	0	6	0,014233
[GO:0001972]	Связывание ретиноидов / binding of retinoids	0	4	0,045392
[GO:0048245]	Эозинофильный хемотаксис / eosinophilic chemotaxis	0	4	0,045392
[GO:0046888]	Снижение секреции гормонов / decreased secretion of hormones	0	5	0,025256
[GO:0097327]	Отклик на цисплатин / response to cisplatin	0	4	0,045392

Примечание: «n-» – число генов со сниженной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР; «n+» – число генов с повышенной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР; TNF- α – фактор некроза опухоли-альфа; NF- κ B – ядерный фактор каппа В; p – статистическая значимость различий по критерию χ^2 .

На рисунке 10 представлено количество генов списков «Список-» и «Список+», соответствующие GO-категориям, отраженным в таблице 10. В целом гены с повышенной экспрессией вследствие воздействия 7-ОН-МР значимо отличаются по своим биологическим ролям от генов со сниженной экспрессией (рис. 10). Совместное рассмотрение профилей частот (рис. 3.5 Б) и данных на рисунках 10 и 11 указывает на несомненное повышение уровней транскриптов генов с онкопротекторным действием на фоне снижения экспрессии генов из пяти остальных функциональных групп.

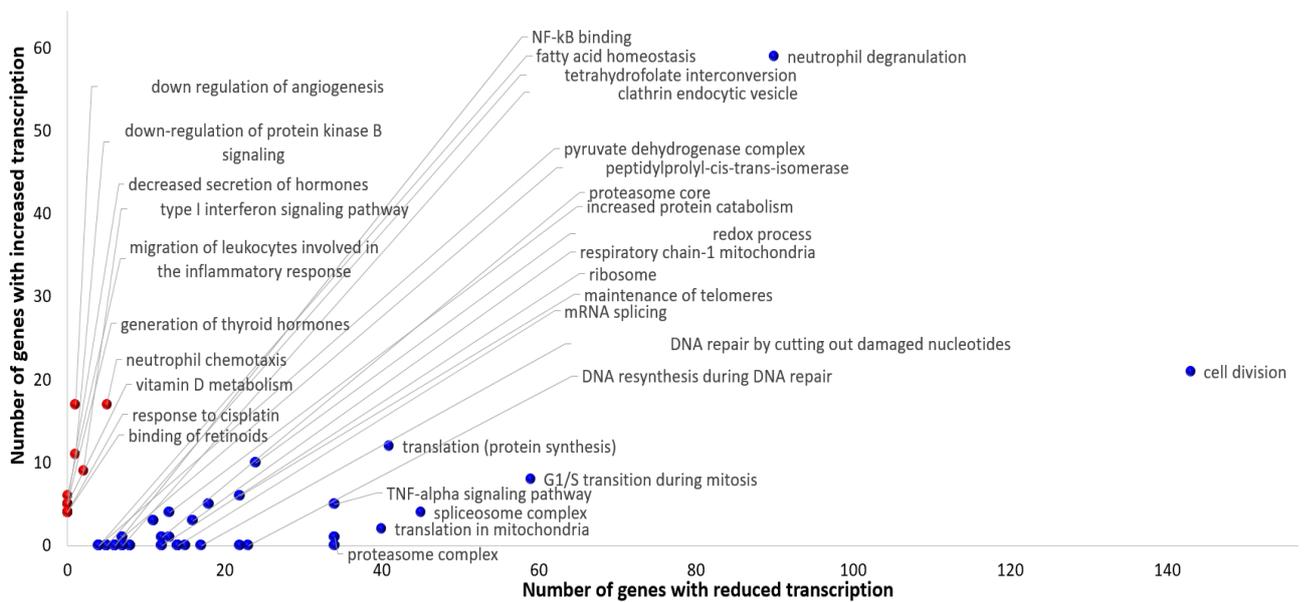
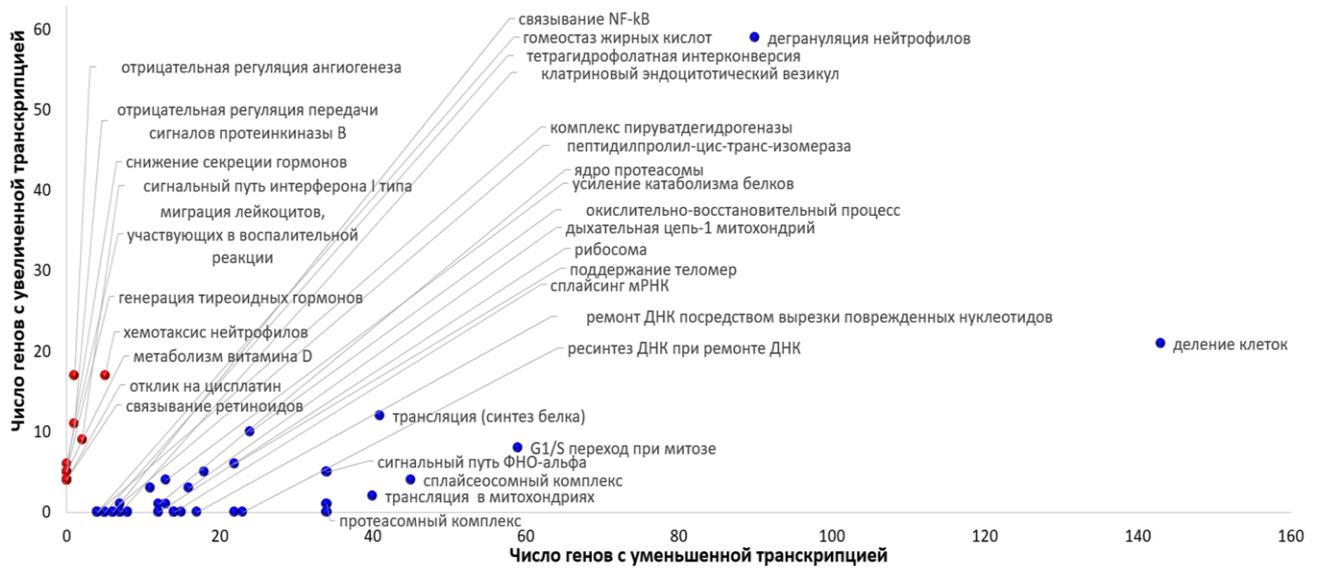


Рисунок 10 – Функциональные аннотации по номенклатуре Gene Ontology (GO) и изменения экспрессии генов, вызываемых 7-гидроксиматаирезинолом (по результатам хемотранскриптомного анализа)

Примечание: красным цветом обозначены группы генов по аннотации GO, экспрессия которых преимущественно повышалась, синим цветом – группы генов, экспрессия которых преимущественно снижалась.

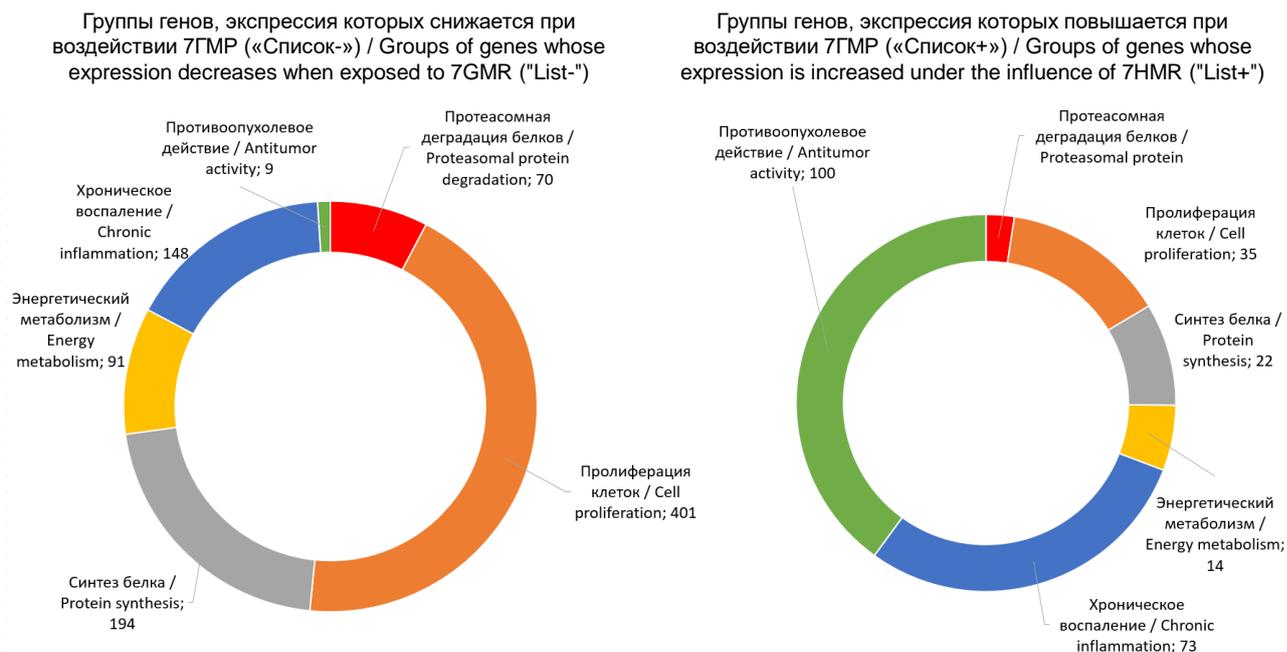


Рисунок 11 – Встречаемость функциональных групп генов со сниженной и с повышенной экспрессией при воздействии 7-гидроксиматаирезинола на клетки MCF-7, 24 ч (по результатам хемотранскриптомного анализа)

Примечание: n – количество соответствующих генов.

Молекулярно-физиологическая интерпретация данных хемотранскриптомного анализа молекулы 7-ОН-МР основана на шести основных группах результатов:

- А.** снижение интенсивности внутриклеточного гомеостаза белков;
- В.** снижение экспрессии генов, вовлеченных в энергетический метаболизм;
- С.** снижение экспрессии генов, вовлечённых в онкопролиферацию;
- Д.** снижение экспрессии генов, вовлечённых в хроническое воспаление;
- Е.** повышение экспрессии онкопротекторных генов;
- Ф.** повышение экспрессии аскорбатзависимых генов.

А. Снижение транскрипции генов синтеза белка (194 гена) и протеолиза белка (70 генов) указывает на общее *снижение интенсивности белкового обмена*

под воздействием 7-ОН-МР. Снижение синтеза белка, включая процессы сплайсинга мРНК и транспорта белков, указывает на уменьшение количеств ростовых факторов. Снижение протеолиза белков соответствует снижению хронического воспаления, регулируемого через сигнальный путь NF- κ B, и активации апоптоза.

В. Снижение транскрипции генов энергетического метаболизма, включая белковые комплексы дыхательной цепи, цикла Кребса, пируватдегидрогеназы и других, указывает на уменьшение обеспеченности онкопролиферативных процессов молекулами АТФ посредством 7-ОН-МР.

С. Снижение транскрипции онкопролиферативных генов (теломеры, репликации ДНК, клеточного цикла и прочих) соответствует уменьшению числа возможных делений опухолевых клеток и преодолению резистентности к химиотерапии [12, 13] при воздействии 7-ОН-МР.

Д. Снижение транскрипции генов хронического воспаления способствует поддержке противовоспалительных эффектов 7-ОН-МР на уровне протеома человека [63], в частности, ингибирование NF- κ B за счёт торможения протеолиза киназы I κ -B.

Е. Повышение под воздействием 7-ОН-МР транскрипции более 100 онкопротекторных генов затрагивает столь разнообразные процессы, как:

- снижение хемотаксиса нейтрофилов, способствующих прогрессии опухолей МолЖ [139], и повышение хемотаксиса Т-лимфоцитов, поддерживающих естественную онкопротекторную реакцию организма [175];
- активность сигнального пути интерферона, который стимулирует апоптоз ОК [176];
- отрицательную регуляцию протеинкиназы В, что ингибирует рост ОК MCF-7 [167];
- отрицательную регуляцию ангиогенеза, что способствует замедлению роста опухолей;
- синтез тиреоидных гормонов, которые ингибируют рост и выживаемость ОК, в том числе клеток линии MCF-7 [190];

- хемотаксис эозинофилов, инфильтрация и дегрануляция которых внутри опухолей способствует разрушению последних [81];
- поддержку метаболизма витамина D, который является одним из важнейших онкопротекторных микронутриентов [12];
- повышение экспрессии рецептора ретиноидов RXR- α , регулирующего пролиферацию, дифференциацию и апоптоз клеток (активация рецептора RXR- α вызывает апоптоз ОК MCF-7 [89]);
- повышение экспрессии гена ABCC2, кодирующего канал-транспортер цисплатина и др.

Г. Повышение транскрипции аскорбатзависимых генов является важным аспектом воздействия 7-ОН-МР, так как *аскорбиновая кислота проявляет выраженные онкопротекторные свойства* [90, 106]. Анализ встречаемости белковых кофакторов (табл. 11) показал, что 7-ОН-МР способствовал преимущественному снижению экспрессии генов, которые кодируют белки с такими кофакторами, как железо-серные кластеры [4Fe-4S] (15 генов; $p = 0,0015$), ионы магния (80 генов; $p = 0,001$), калий (6 генов; $p = 0,014$) и железо (4 гена; $p = 0,045$).

Таблица 11 – Кофакторы белков

Кофактор	n–	n+	p
[4Fe-4S]	15	2	0,001579
Mg ²⁺	80	48	0,004043
K ⁺	6	0	0,014233
Fe ²⁺	4	0	0,045392
Аскорбатанион	1	6	0,058561

Примечание: «n–» – число генов со сниженной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР; «n+» – число генов со повышенной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР; p – статистическая значимость различий по критерию χ^2 .

Все перечисленные кофакторы играют важную роль в поддержании «клеточного дыхания» и энергетического метаболизма ОК, так что снижение их

экспрессии соответствует онкопротекторному действию. Кроме того, 7-ОН-МР повышал транскрипцию генов, белки которых содержат аскорбат-анион в качестве кофактора (6 генов; $p = 0,058$). Частота встречаемости генов со сниженной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР («Список–») статистически значимо отличалась от частоты встречаемости генов с повышенной экспрессией при воздействии 7-ОН-МР («Список+»).

В таблице 12 приведены отдельные примеры дозозависимого изменения экспрессии генов под воздействием 7-ОН-МР, полученные в результате проведения хемотранскриптомного анализа молекулы.

Таблица 12 – Примеры дозозависимого изменения экспрессии генов на клетки MCF-7 под воздействием 7-гидроксиматаирезинола

Ген	ИЭ, %	Белок	Функция белка
CDCA3	–18,5	Белок А3 цикла деления клеток / Protein A3 cell division cycle	Инициация деления клеток, фаза G2/M клеточного цикла / Initiation of cell division, G2/M phase of the cell cycle
UBE3C	–30,4	Убиквитин протеин лигаза E3C/ Ubiquitin protein ligase E3C	Деградация белков на протеасоме / Protein degradation on the proteasome
RUVBL1	–16,3	RuvB-подобный белок-1/ RuvB-like protein-1	Активация онкогенов и протоонкогенов, репарация ДНК / Activation of oncogenes and proto-oncogenes, DNA repair
PSMB3	–15,9	Субъединица протеасомы бета-3 / Proteasome subunit beta-3	Компонент протеасомы, участвует в протеолизе внутриклеточных белков / Component of the proteasome involved in the proteolysis of intracellular proteins
DCLRE1B	–7,6	Белок-1B ремонта ДНК/ Protein-1B DNA repair	Защита теломер во время S-фазы клеточного цикла / Telomere protection during the S-phase of the cell cycle
DKC1	–6,7	Дискерин / Diskerin	Поддержание теломер / Maintenance of telomeres

Ген	ИЭ, %	Белок	Функция белка
NHP2	-6,3	Рибонуклеопротеин NHP2 / Ribonucleoprotein NHP2	Поддержание теломер / Maintenance of telomeres
DDIT4	16,2	Транскрипт 4, индуцируемый повреждением ДНК / Transcript 4 induced by DNA damage	Регулирует пролиферацию посредством ингибирования рапамицинового комплекса 1 (белковый комплекс mTORC1) / Regulates proliferation through inhibition of rapamycin complex 1 (mTORC1 protein complex)
IFNAR2	14,7	Интерферон рецептор-2 / Interferon receptor-2	Рецептор-1 интерферонов альфа и бета / Interferon receptor-1 alpha and beta
SLURP1	13,1	Белок SLURP1 с доменом LY6/PLAUR/ SLURP1 protein with LY6/PLAUR domain	Участвует в поддержании физиологической и структурной целостности слоев кератиноцитов / Involved in maintaining the physiological and structural integrity of keratinocyte layers
SZT2	12,6	Белок SZT2 (судорожный порог-2) / SZT2 protein (seizure threshold-2)	Ингибирует активность mTORC1, клеточный ответ на окислительный стресс / Inhibits mTORC1 activity, cellular response to oxidative stress
ITIH5	10,6	Ингибитор интер- α -глобулина H5 / Inter- α -globulin H5 inhibitor	Подавляет развитие опухолей / Suppresses the development of tumors

Примечание: ИЭ – изменение экспрессии на 1 мкмоль 7-ОН-МР.

Как было отмечено выше, 7-ОН-МР может приводить к снижению экспрессии генов, вовлечённых в протеасомную деградацию белков (протеолиз). Например, снижалась экспрессия гена PSMB3, кодирующего субъединицу бета-3 протеасомы, и также гена UBE3C, кодирующего убиквитин протеин лигазу E3C, которая направляет белки на деградацию на протеасоме [138]. Снижение экспрессии гена CDCA3 (белок A3 цикла деления клеток) соответствует

торможению деления клеток (митоза), так как данный белок опосредует убиквитинирование и деградацию WEE1-киназы в фазе G2/M клеточного цикла, тем самым инициируя митоз.

Хемотранскриптомный анализ показал, что 7-ОН-МР *снижает экспрессию генов, белки которых участвуют в пролиферации опухолевых клеток*. Например, снижается экспрессия гена RUVBL1, который экспрессируется во всех видах клеток. Ген RUVBL1 кодирует ДНК-геликазу – фермент под названием «RuvB-подобный белок-1», разъединяющий нити двойной спирали ДНК, которая участвует в транскрипционной активации генов. Белок RUVBL1 необходим для активации транскрипционных программ онкогенов и протоонкогенов, стимулирующих рост опухоли, а также для репарации ДНК. RuvB-подобный белок-1 играет существенную роль в онкогенной трансформации, вызываемой геном MYC, который принципиально необходим для пролиферации опухолевых клеток [33, 145].

7-ОН-МР может *снижать экспрессию генов, белки которых участвуют в поддержании структуры теломер* – концевых участков хромосом, которые укорачиваются в каждом цикле деления клетки, что является одной из важнейших причин биологического старения. Поддержание структуры теломер осуществляется теломеразой – ферментным комплексом, добавляющим специфическую последовательность ДНК к теломерам, тем самым стабилизируя хромосомы [144].

В частности, хемотранскриптомный анализ 7-ОН-МР указал на снижение экспрессии гена DKC1 (дискерин, необходим для биогенеза рибосома и поддержания теломер, пролиферации клеток [114]) и гена DCLRE1B (белок-1В перекрестного ремонта ДНК, осуществляющего поддержание и защиту теломер во время S-фазы клеточного цикла). Белок, кодируемый геном DCLRE1B, необходим для формирования теломерной петли (Т-петли), защищает теломеры от ферментов ремонта ДНК, от повреждения во время репликации при участии топоизомераз TOP1, TOP2A и TOP2B [188].

Под воздействием 7-ОН-МР может снижаться экспрессия гена NHP2. Соответствующий этому гену рибонуклеопротеин NHP2 требуется для *поддержания теломер*, участвуя в модификациях и внутриядерном транспорте белка TERC – РНК-компонента обратной транскриптазы ферментного комплекса теломеразы [193]. Избыточная активация теломеразы наблюдается в 90% всех раковых заболеваний человека, что указывает на важность этого механизма в формировании и развитии новообразований.

Хемотранскриптомный анализ указал на *повышение под воздействием 7-ОН-МР экспрессии генов, подавляющих развитие опухолей*: гена ITH5 (ингибитор интер- α -глобулина H5, экспрессируется в МолЖ и яичниках, подавляет развитие опухолей), гена SLURP1 (белок SLURP1, поддерживает целостность слоев кератиноцитов [169], маркер поздней дифференциации кожи, обладает онкопротекторной активностью), гена IFNAR2 (рецептор интерферонов альфа и бета, участвует в IFN-опосредованной активации сигнальных белков STAT1, STAT2 и STAT3 [120]) и гена SZT2 (белок SZT2, ингибирует активность mTORC1, участвует в регуляции mTORC1 глюкозой [126], играет роль в клеточном ответе на окислительный стресс [149]).

Полученные результаты указывают на дальнейшие перспективы исследований молекулы 7-ОН-МР. Во-первых, необходимо установить, являются ли описанные изменения в транскрипции генов результатом воздействия 7-ОН-МР на некоторые факторы транскрипции, которые одновременно являются таргетными белками для 7-ОН-МР. Во-вторых, следует установить, являются ли описанные выше изменения транскрипции результатом изменения сигнального состояния клеток под воздействием 7-ОН-МР.

Результаты хемотранскриптомного анализа указывают на реалистичные механизмы онкопротекторного действия 7-ОН-МР. Состояние гиперэстрогении (например, при мастопатии) соответствует гиперпролиферативному профилю пациентки. Обычно считается, что 7-ОН-МР якобы является «прямым антагонистом» эстрогенов. Однако прямых взаимодействий 7-ОН-МР с рецепторами эстрогенов не было установлено. В то же время

хемотранскриптомный анализ указал на целый комплекс физиологических свойств 7-ОН-МР, которыми данная молекула противодействует проопухолевым свойствам эстрогенов (регуляция экспрессии более 100 генов онкопротекторного действия, 401 гена пролиферации клеток, 148 генов хронического воспаления и др.).

В экспериментальных и клинических исследованиях были продемонстрированы онкопротекторные свойства 7-ОН-МР-Лигнариус в условиях гиперэстрогении. Приём 120 мг/сут 7-ОН-МР-Лигнариус статистически значимо тормозил интенсивность роста опухолевых узлов на фоне гиперэстрогении и мышей с моделью карциномы Эрлиха [51].

3.7. Резюме к главе 3

В главе 3 нами подробно рассмотрены результаты оценок свойств молекул 7-ОН-МР, 17-эстрадиол, фитоэстроген β -ситостирол, эпигаллокатехин-3-галлат, полученные в результате хемореактного моделирования – новейшего направления постгеномной фармакологии. Хемоинформационный анализ молекулы 7-ОН-МР показал, что схожие с 7-ОН-МР молекулы характеризуются противоопухолевым, антибактериальным, противовирусным, гепатопротекторным, противовоспалительным, вазодилатирующим, гиполипидемическими, антитромботическим, антиоксидантным, противодиабетическим и нейропротекторным эффектами.

Результаты хемореактного моделирования позволили сформулировать молекулярные механизмы осуществления фармакологических эффектов 7-ОН-МР для вазодилаторных (ингибирование адренорецепторов и ренина), противовоспалительных (ингибирование 5-липоксигеназы, матриксной металлопротеиназы MMP2, митоген-активируемой киназы p38-альфа, рецептора лейкотриена b4, рецептора простаглицлина), противоопухолевых (антиоксидантный эффект за счёт ингибирования гемоксигеназы-2, ингибирование циклинзависимых киназ 3 и 4, фактора роста эпидермиса, белка

mTOR) и антивирусных (ингибирование вирусных протеаз 3С) свойств молекулы 7-ОН-МР (см. рис. 3). Показана возможность существования у молекулы 7-ОН-МР гепатопротекторного действия, связанного с активацией фактора роста гепатоцитов, аденилатциклазы-2 и печеночной триацилглицериновой липазы.

Результаты хемотранскриптомного анализа молекулы 7-ОН-МР при оценке влияния на опухолевые клетки линии MCF-7 указали на несколько важных особенностей ее транскриптомного воздействия. В частности, под воздействием 7-ОН-МР может снижаться экспрессия онкопролиферативных генов ($n = 401$), генов синтеза белка ($n = 194$) и протеолиза белка ($n = 70$), синтеза АТФ в ОК ($n = 91$) и регуляции хронического воспаления ($n = 148$). Уменьшение экспрессии этих групп генов тормозит процессы пролиферации и жизнедеятельности ОК, одновременно защищая организм от избыточного воспаления. Параллельно 7-ОН-МР способствовал преимущественному повышению транскрипции групп генов, вовлеченных в онкопротекторное действие (более 100 генов), в том числе генов, участвующих в поддержании онкопротекторного иммунитета, а также генов, опосредующих онкопротекторные свойства витамина D, ретиноидов и витамина С. Описанные изменения в транскрипции генов усиливают воздействие лигнанов на белки протеома и указывают на перспективы использования 7-ОН-МР у пациенток с опухолевыми заболеваниями.

Глава 4. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

4.1. Модель злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха

Исследования проведены на 74 аутбредных мышах-самках. Животные были получены из питомника ФГБУН НЦБМТ ФМБА России, имели ветеринарный сертификат и прошли 20-суточный карантин в виварии МРНЦ им. А.Ф. Цыба. Содержались животные в соответствии с требованиями приказа МЗ РФ №708н: в клетках Т-3 в условиях естественного освещения и принудительной 16-кратной вентиляцией, при температуре 18–20 °С и относительной влажности воздуха 40–70%, на подстилке из простерилизованных древесных стружек, со свободным доступом к питьевой воде и стандартному брикетированному корму ПК-120-1 (ООО «Лабораторснаб», Россия). Все работы с лабораторными животными выполнены в соответствии с общепринятыми этическими нормами, на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБОУ ВО Ивановский ГМУ, которые соответствуют правилам Европейской конвенции по защите животных, используемых для научных целей (ETS 123).

Опухолевая модель. Исследования проведены на перевиваемой мышью КЭ. Штамм поддерживался на аутбредных мышах-самках в виде асцитной карциномы. Подсадку солидной КЭ аутбредным мышам-самкам проводили подкожным введением $2,5 \times 10^6$ опухолевых клеток в 0,1 мл суспензии в область латеральной поверхности правого бедра, на которой предварительно депилировали шерстный покров.

4.2. Оценка состояния лабораторных животных

в модели злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха

После трансплантации КЭ мышей-опухоленосителей распределили методом рандомизации в пять экспериментальных групп – одну контрольную и четыре подопытных, по 14–16 особей в каждой. Животных включали в опыт на

пятые сутки после перевивки КЭ, когда опухолевый узел уже сформировался и достигал измеряемого размера практически у всех мышей.

Животные контрольной группы в дальнейшем не получали никаких воздействий. Мышам первой опытной группы с 7-е по 21-е сутки роста солидной КЭ ежедневно однократно внутрижелудочно (в/ж) вводили фармацевтическую субстанцию 7-ОН-МР 60 мг/кг/сут. Особям второй подопытной группы с 7-е по 21-е сутки роста опухоли ежедневно однократно в/ж вводили 7-ОН-МР в дозе 120 мг/кг/сут. Животным третьей подопытной группы на 5-е и 6-е сутки роста КЭ однократно в/ж вводили эстрадиола валерат (0,51 мг/кг), и далее с 7-е по 21-е сутки роста опухоли проводили ежедневное в/ж введение комбинации эстрадиола валерата и через 30 минут 7-ОН-МР в дозе 120 мг/кг. Животным четвертой подопытной группы с 7-е по 21-е сутки роста опухоли ежедневно, однократно в/ж вводили эстрадиола валерат в дозе 0,51 мг/кг.

Рабочие растворы препаратов изготавливались непосредственно перед введением на 1 %-ном крахмальном геле в концентрациях из расчета 0,1 мл на 10 г массы тела животных. Растворы эстрадиола валерата готовили с добавлением TWIN 80.

Оценка эффектов. Переносимость изучаемых препаратов оценивали по реакции животных на их введение и путем ежедневного осмотра и наблюдения: изучался неврологический статус по характеру спонтанной двигательной активности, общей возбудимости и реакции на тактильные и звуковые раздражители, а также по пищевой активности животных и динамике прироста их массы тела.

Влияние препаратов на опухолевый процесс изучали по динамике роста солидной КЭ. Для этого каждые трое-четыре суток у всех животных измеряли калипером максимальный (L) и минимальный (W) диаметр опухолевых узлов и изменяли их объем в приближении $V = (L \times W^2) \times (\pi/6)$, которое надежно коррелирует с данными МРТ. Влияние на развитие КЭ оценивали путем статистического сравнения объема опухолевых узлов в контрольной и подопытных группах на различных сроках наблюдения, а также посредством

статистического сравнения диаграммам выживаемости Каплана – Мейера и средней продолжительности жизни животных.

Результаты и обсуждение

Раздельное и комбинированное субхроническое в/ж введение растворов 7-ОН-МР и эстрадиола валерата в использованных дозах животные переносили легко. Каких-либо проявлений интоксикации, изменений в поведении и двигательной активности подопытных мышей не наблюдалось. В течение всего эксперимента пищевая активность в подопытных группах не отличалась от такой у контрольных животных. Вес мышей колебался в пределах погрешности и статистически не отличался от веса животных в контрольной группе (табл. 13).

Таблица 13 – Динамика массы тела мышей в экспериментальных группах

Группа	Средняя относительная масса тела, % (M ± m) *				
	7-е сутки	10-е сутки	13-е сутки	17-е сутки	21-е сутки
Контроль	100,0 (n = 14)	101,9 ± 1,2 (n = 14)	100,7 ± 1,7 (n = 14)	107,5 ± 1,0 (n = 13)	109,3 ± 1,6 (n = 13)
7-ОН-МР 60 мг/кг	100,0 (n = 14)	102,0 ± 1,3 (n = 14)	101,6 ± 1,7 (n = 14)	102,5 ± 2,4 (n = 14)	105,2 ± 2,6 (n = 14)
7-ОН-МР 120 мг/кг	100,0 (n = 15)	99,5 ± 1,7 (n = 15)	102,2 ± 1,9 (n = 15)	102,8 ± 2,5 (n = 15)	107,4 ± 2,8 (n = 14)
Эстрадиола валерат + 7-ОН-МР 120 мг/кг	100,0 (n = 16)	100,7 ± 1,4 (n = 16)	99,9 ± 1,4 (n = 16)	101,7 ± 1,9 (n = 16)	103,1 ± 1,5 (n = 15)
Эстрадиола валерат	100,0 (n = 15)	103,6 ± 1,8 (n = 15)	102,6 ± 2,2 (n = 15)	106,5 ± 2,3 (n = 15)	101,8 ± 2,6 (n = 15)

Примечание: * – показатели нормированы на массу тела на 7-е сутки роста опухоли.

В данной работе было проведено две серии экспериментов. В первой серии исследовалось влияние двух различных доз 7-ОН-МР (60 и 120 мг/кг) на

интенсивность роста опухоли и выживаемость животных. Во второй серии изучалось воздействие 7-ОН-МР на рост опухолей на фоне приема эстрадиола валерата.

4.3. Оценка противоопухолевого действия 7-гидроксиматаирезинола на модели злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха

В то время как статистически значимых различий в динамике массы тела не наблюдалось (см. табл. 13), при приеме 7-ОН-МР было установлено статистически значимое увеличение стандартного отклонения массы тела (рис. 12). Иначе говоря, приём 7-ОН-МР был ассоциирован с дифференцированным откликом животных на приём препаратов: у одних животных рост массы тела замедлялся, у других – ускорялся. Такой дифференцированный отклик является косвенным признаком противоопухолевого действия препарата.

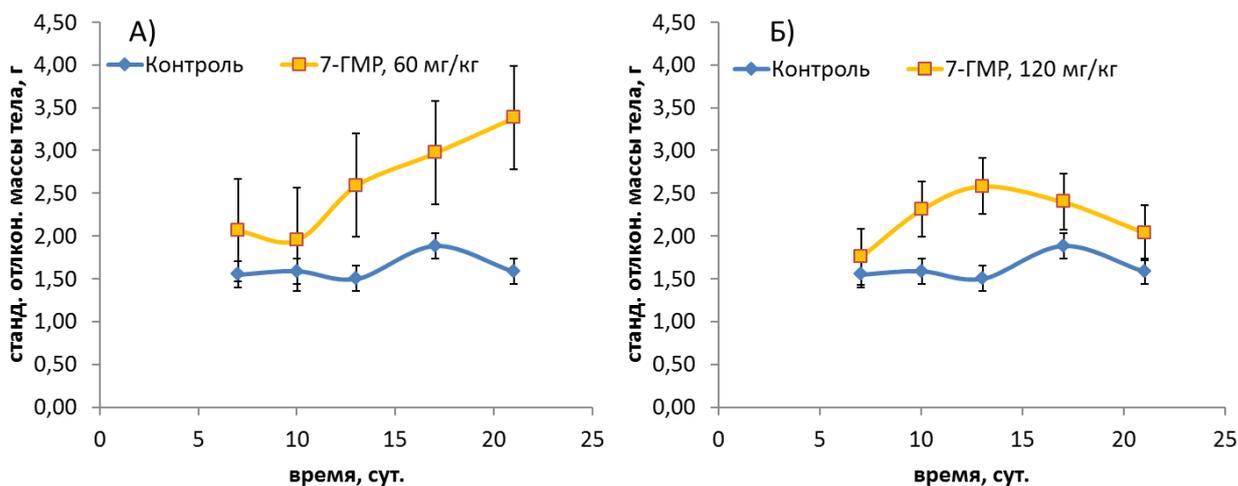


Рисунок 12 – Статистически значимые различия в значениях стандартного отклонения массы тела при приеме 7-гидроксиматаирезинола в дозах 60 мг/сут (А) и 120 мг/сут (Б).

Анализ динамики роста среднего объёма опухолевого узла показал, что применение 7-ОН-МР тормозило интенсивность роста опухолей (рис. 13).

Наиболее выраженный эффект отмечался при использовании 120 мг/сут 7-ОН-МР.

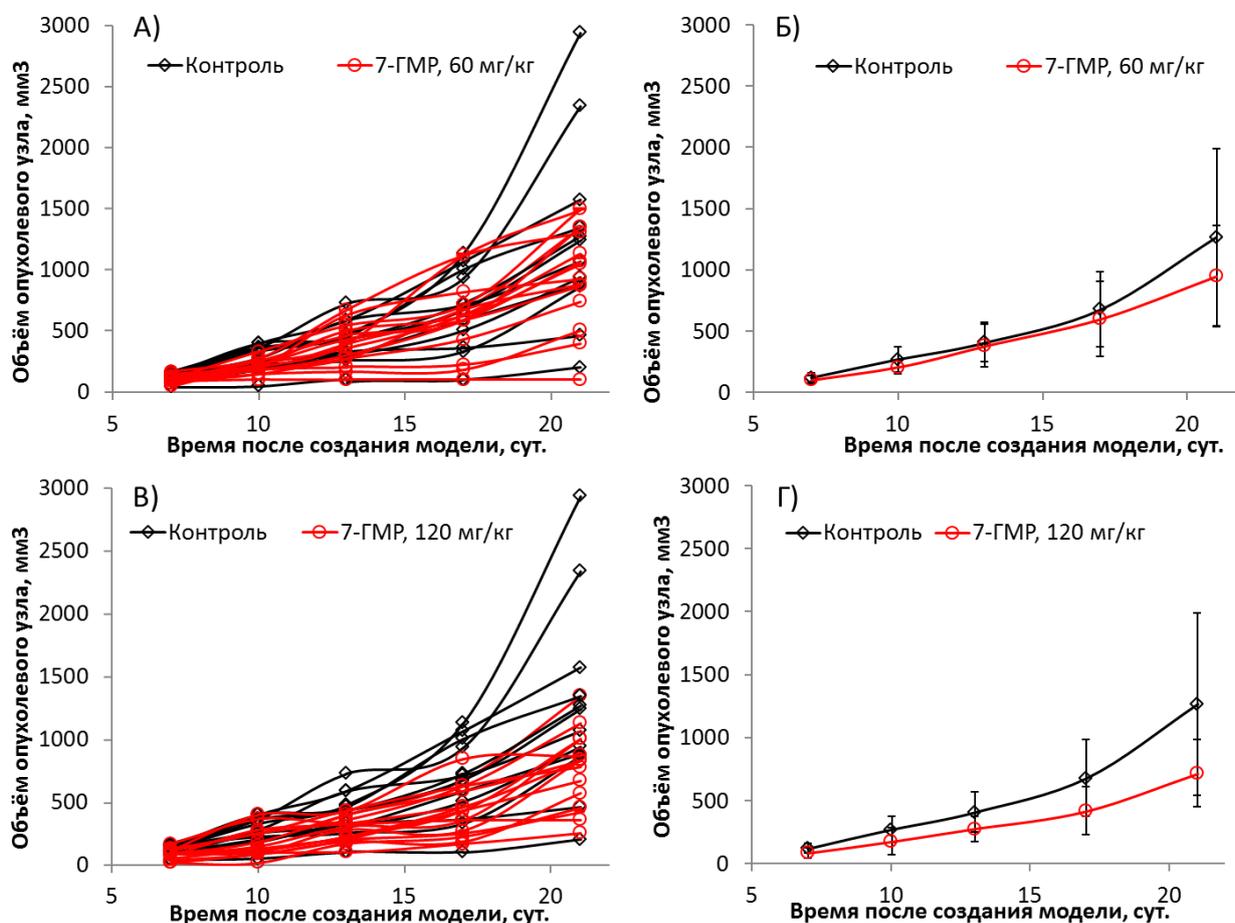


Рисунок 13 – Динамика роста объёма опухолевого узла:

- А. 7-гидроксиматаирезинола 60 мг/кг, индивидуальные кривые.
- Б. 7-гидроксиматаирезинола 60 мг/кг, усреднённые кривые.
- В. 7-гидроксиматаирезинола 120 мг/кг, индивидуальные кривые.
- Г. 7-гидроксиматаирезинола 120 мг/кг, усреднённые кривые

Анализ данных, проведенный с использованием теста Колмогорова – Смирнова, показал, что при дозе 7-ОН-МР в 60 мг/сут статистически значимые различия в среднем объёме опухолей наблюдались только на 21-е сутки. Так, при приёме 60 мг/сут 7-ОН-МР средний объём опухоли на 21-е сутки снижался на 407 мм^3 , что было статистически значимо ниже, чем в группе контроля (максимальное отклонение – $D = 0,39$, число точек сравнения – $n = 11$, $p = 0,051$).

При повышении дозы 7-ОН-МР противоопухолевый эффект был более очевиден. Так, при приёме 120 мг/сут 7-ОН-МР средний объём опухоли был статистически значимо ниже, чем в контроле, уже на 7-е сутки. В дальнейшем разница между опытной и контрольной группами нарастала и была статистически значимой на 13-е, 17-е и 21-е сутки (рис. 14). Например, на 21-е сутки средний объём опухолевого узла при приёме 7-ОН-МР был на 620 мм³ ниже, чем в группе контроля (максимальное уклонение – $D = 0,59$, $n = 11$, $p = 0,00036$. Более того, на 21-е сутки ни у одного из животных из группы принимавших 120 мг/кг 7-ОН-МР объём опухоли не превышал 1100 мм³, в то время как в контроле такие значения отмечались у половины животных (50 %, $n = 7$).

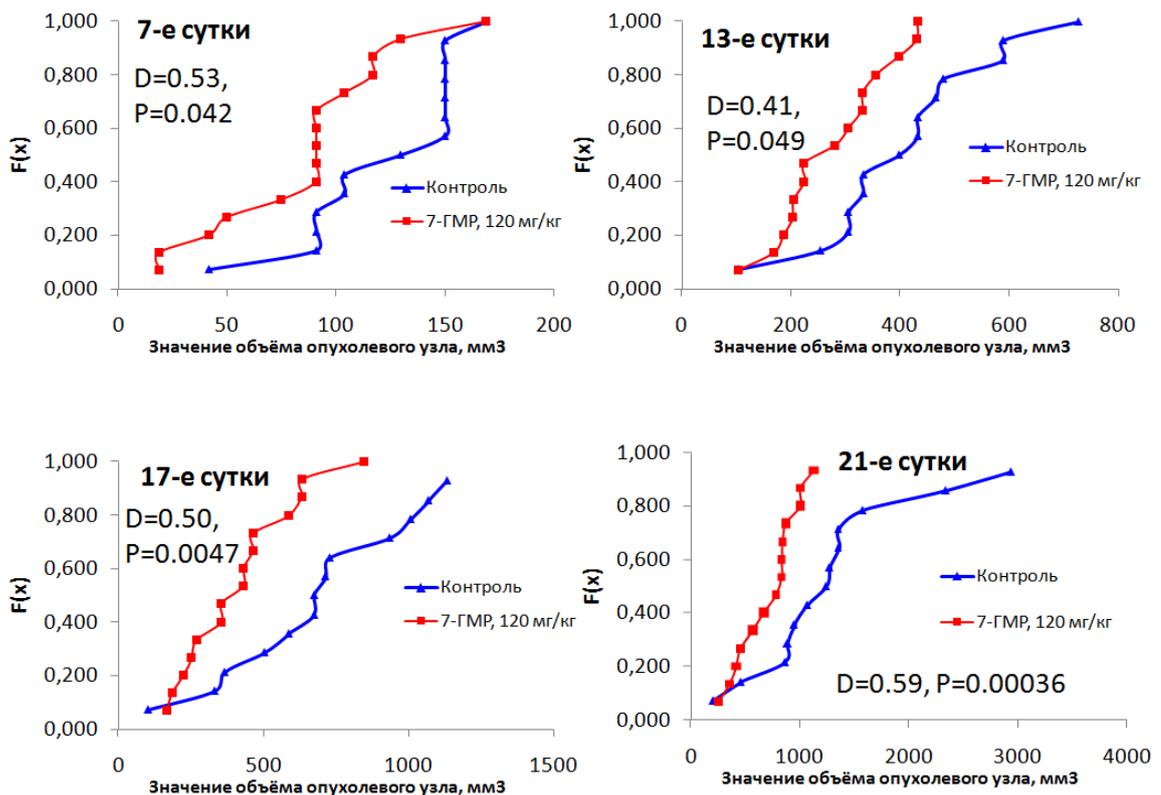


Рисунок 14 – Ослабление динамики роста среднего объёма опухолевого узла при приёме 7-гидроксиматаирезинола в дозе 120 мг/кг: тест Колмогорова – Смирнова

Примечание. Приведены значения максимального уклонения (D) и соответствующие значения статистической значимости (P).

4.4. Оценка противоопухолевого действия 7-гидроксиматаирезинола на фоне приёма эстрогенов на модели злокачественной перевиваемой карциномы Эрлиха

Приём эстрогенсодержащего препарата после создания опухоли приводил к некоторому увеличению интенсивности роста опухолевых узлов (рис. 15А, Б). Однако наблюдаемые различия не являлись статистически значимыми ($p > 0,25$). Приём 120 мг/сут 7-ОН-МР статистически значимо тормозил интенсивность роста опухолевых узлов на фоне приёма эстрогенов (рис. 16В, Г). Различия были статистически значимыми на 10-е, 13-е, 17-е и 21-е сутки. Наиболее выраженным был эффект на 21-е сутки: средний объём опухолевого узла снижался на 322 мм³, что было статистически значимо ниже, чем в группе животных, получавших только эстрадиола валерат ($D = 0,43$, $p = 0,007$).

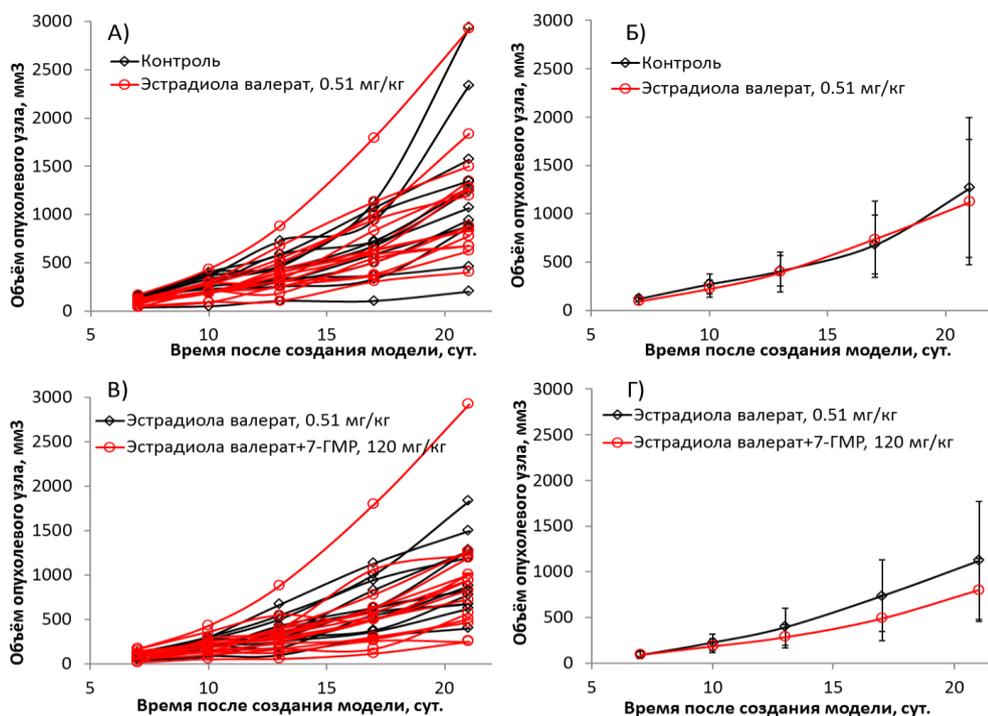


Рисунок 15 – Динамика роста среднего объёма опухолевого узла на фоне приёма эстрадиола валерата (0,51 мг/кг/сут). А. Эстрадиола валерат, индивидуальные кривые. Б. Эстрадиола валерат, усреднённые кривые. В. Эстрадиола валерат + 120 мг/кг 7-гидроксиматаирезинола, индивидуальные

кривые. Г. Эстрадиола валерат + 120 мг/кг 7-гидроксиматаирезинола, усреднённые кривые

4.5. Анализ выживаемости животных при приёме 7-гидроксиматаирезинола

При анализе выживаемости животных обращало на себя внимание то, что у единичных мышей (по 1–2 особи) в группах, получавших 7-ОН-МР, отмечалось существенное повышение продолжительности жизни, хотя при статистическом анализе эти эффекты оставались в пределах статистической погрешности (табл. 14, рис. 16). 2 из 14 мышей, получавших 120 мг/сут 7-ОН-МР, и одна из 14 мышей, получавших 60 мг/сут 7-ОН-МР, выживали в течение 3,5 мес. после начала эксперимента. В контроле к 60-му дню эксперимента все животные погибли. Таким образом, приём 7-ОН-МР создавал прецеденты необычно продолжительного выживания животных в условиях роста солидной КЭ и, как было показано выше, существенно снижал интенсивность роста опухолей.

Таблица 14 – Средняя продолжительность жизни животных и статистические показатели

Группа	Средняя продолжительность жизни, сут ($M \pm m$)	Вероятность нулевой гипотезы	
		p_1 *	p_2 **
Контроль, мг/кг	41,9 ± 12,4 ($n = 14$)	0,4912	
7-ОН-МР60, мг/кг	47,4 ± 16,9 ($n = 14$)		0,2838
7-ОН-МР120, мг/кг	44,5 ± 15,8 ($n = 15$)		0,5448
Эстрадиола валерат + 7-ОН-МР 120, 0,51 мг/кг	42,5 ± 12,3 ($n = 16$)		0,8995
Эстрадиола валерат, 0,51 мг/кг	47,9 ± 17,4 ($n = 15$)		0,3077

Примечание: * $-p_1$ – по тесту Крускала – Уоллиса, ** $-p_2$ – для диаграмм выживаемости по F-критерию Кокса.

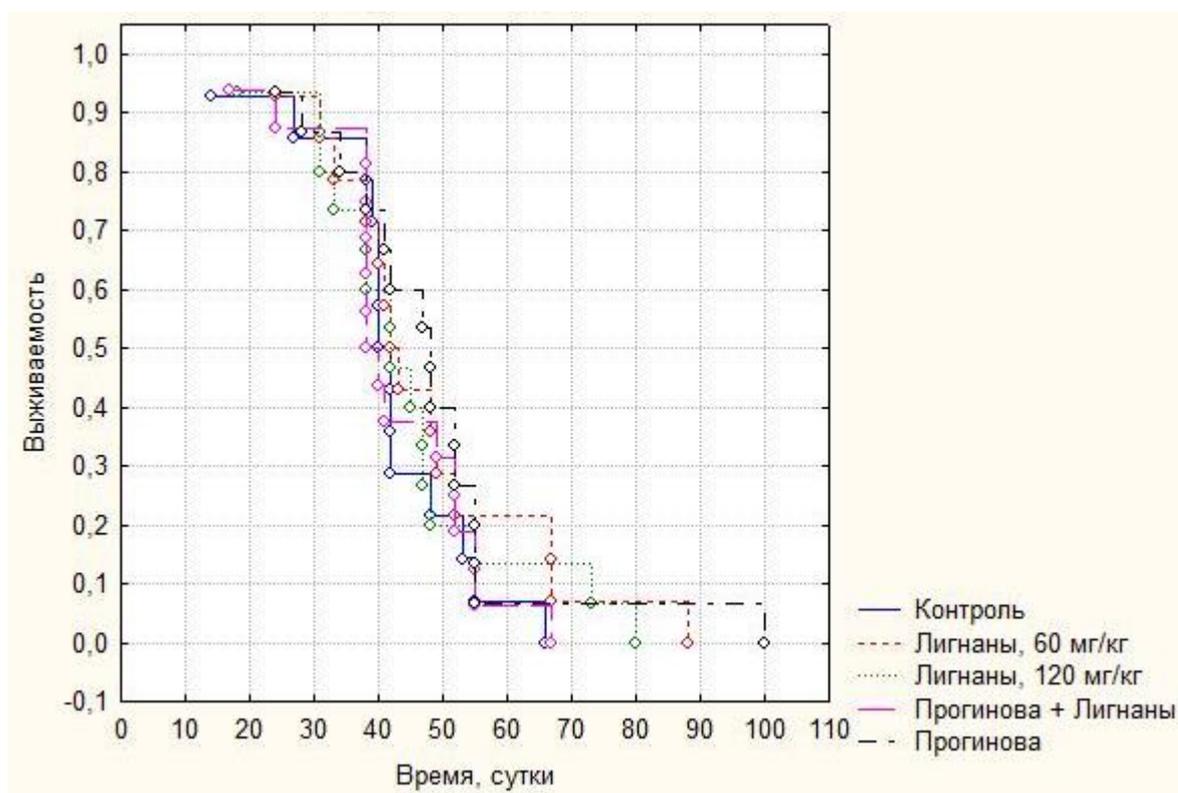


Рисунок 16 – Диаграммы выживаемости Каплана – Мейера мышей-опухоленосителей в экспериментальных группах

В эксперименте 7-ОН-МР и его метаболит энтеролактон уменьшают рост и метастазы клеток *опухоли печени*, привитых подкожно крысам (клеток гепатомы линии АН109А). 7-ОН-МР подавлял пролиферацию клеток гепатомы, удлиняя время деления клеток гепатомы и увеличивая скорость апоптоза раковых клеток [121].

Показано, что 7-ОН-МР позволяет осуществлять эффективную профилактику *опухолей матки*, вызванных однократным воздействием канцерогена N-этил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина на крыс в 11-недельном возрасте. После действия канцерогена осуществлялись дотации весьма больших доз 7-ОН-МР (200 или 600 мг/кг в составе соевой диеты) до возраста в 15 месяцев. Заболеваемость аденокарциномой матки была значительно снижена уже при приёме 200 мг/кг 7-ОН-МР (11 %, контрольная группа – 50 %, $p < 0,05$) [97].

Химиопрофилактическая активность 7-ОН-МР также была показана на модели *аденоматозной полипозной кишечной неоплазии* у мышей. Среднее число аденом в тонком кишечнике при приёме 7-ОН-МР было значительно ниже ($26,6 \pm 11,0$ у. е., $p < 0,05$) по сравнению с мышами, которые получали плацебо ($39,6 \pm 8,9$ у. е.). 7-ОН-МР приводит к нормализации уровня бета-катенина в ткани аденомы, указывая на то, что 7-ОН-МР опосредует свой химиопрофилактический эффект через β -катениновый сигнальный путь. Заметим, что приём 7-ОН-МР позволил восстановить внутриядерный уровень бета-катенина в ткани аденомы ($0,41 \pm 0,25$ у. е.) до уровня, обнаруженного в неизменённых клетках окружающей слизистой оболочки ($0,36 \pm 0,28$ у.е.) [143].

4.6. Резюме к главе 4

В главе 4 описаны эффекты 7-ОН-МР (действующего вещества препарата «Лигнариус») в дозах 60 и 120 мг/кг/сут на скорость роста опухолевых узлов солидной КЭ. Наиболее выраженный эффект отмечался при использовании дозы 120 мг/сут 7-ОН-МР: на 21-е сутки средний объём статистически значимо снижался на 620 мм^3 , что было статистически значимо ниже, чем в группе контроля ($p = 0,00036$ по тесту Колмогорова – Смирнова). Ни у одного животного из группы принимавших 120 мг/кг 7-ОН-МР объём опухоли не превышал 1100 мм^3 , в то время как в группе контроля такие значения отмечались у 50 % животных. Приём 120 мг/сут 7-ОН-МР статистически значимо тормозил интенсивность роста опухолевых узлов на фоне приёма эстрадиола валерата: средний объём опухолевого узла на 21-е сутки снижался на 322 мм^3 ($p = 0,007$). При анализе выживаемости у малой части подопытных мышей-опухоленосителей (14 %), получавших 7-ОН-МР в дозе 120 мг/сут, наблюдалось значительное повышение продолжительности жизни (более 3 мес.). Таким образом, 7-ОН-МР в дозах 60 и 120 мг/кг/сут оказывает статистически значимое противоопухолевое воздействие на рост солидной КЭ.

Глава 5. **КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ ЖЕНЩИН.**

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ КЛИМАКТЕРИЧЕСКОГО СИНДРОМА И ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ МАСТОПАТИИ У ЖЕНЩИН НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ 7-ГИДРОКСИМАТАИРЕЗИНОЛА

5.1. Социально-экономический статус

В настоящей работе нами были обследованы 60 женщин, из них сформированы две репрезентативные клинические группы: исследуемую группу составили 40 больных с ФКМ, контрольную – 20 пациенток без патологии МолЖ.

Пациентки обеих групп отбирались в ОБУЗ «Ивановский областной онкологический диспансер».

У женщин с ФКМ имели место масталгии в 80 % случаев, причем у 37,5 % – слабой степени, умеренный болевой синдром отмечался у 43,75 %, выраженная масталгия наблюдалась в 18,75 % случаев. Следует отметить, что у женщин контрольной группы лишь в 35 % случаев отмечалась болезненность МолЖ.

Пациентки исследуемой группы чаще предъявляли жалобы на болезненность МолЖ (исследуемая группа – 27,5%; контроль – 5 %; $p = 0,037$), а также нагрубание МолЖ в анамнезе (35 и 15 % соответственно; $p = 0,0005$).

У большинства женщин исследуемой группы ФКМ была выявлена в перипостменопаузальном периоде – 62,5 %. На предменструальное напряжение МолЖ указывали в исследованной группе 87,5 % больных, тогда как в контроле – всего 40 % ($p < 0,05$).

Все обследованные были жительницами г. Иваново и Ивановской области. Подбор пациенток в группы проводился по принципу копи-пара. Средний возраст обследованных в сравниваемых группах не отличался и составил в группе контроля $52,9 \pm 4,58$ года в исследуемой группе – $53,35 \pm 3,99$ года ($p > 0,05$). Все пациентки находились в постменопаузальном периоде.

Согласно системе STRAW+10, все женщины оказались в раннем (+1) постменопаузальном периоде – от 1 года до 6 лет.

Сравнительная характеристика обследованных женщин представлена в таблицах 16–19.

Пик заболеваемости ФКМ приходился на возраст 41–50 лет (табл. 15).

Таблица 15 – Частота встречаемости фиброзно-кистозной мастопатии

Группы	Частота встречаемости					
	20–30 лет		31–40 лет		41–50 лет	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	8	20	7	17,5	25	62,5
Контрольная n = 20	0	0	0	0	0	0

По образовательному уровню женщины распределились следующим образом: большинство больных с ФКМ имели высшее образование, у женщин контрольной группы чаще было среднее специальное образование (табл. 16).

Таблица 16 – Образовательный уровень обследованных женщин

Группы	Образовательный уровень					
	среднее специальное		высшее		всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	10	25	30	75	40	100
Контрольная n = 20	13	65	7	35	20	100
			p = 0,0032			

Примечание: p – уровень статистической значимости различий между исследуемой и контрольной группами.

Распределение обследованных женщин по социальному статусу показало, что среди женщин исследуемой группы преобладали служащие, а в контроле –

представительницы рабочих профессий (табл. 17). Таким образом, пациентки с ФКМ чаще были служащими, а женщины контроля чаще занимали рабочие должности.

Таблица 17 – Социальный статус обследованных женщин

Группы	Социальный статус					
	служащие		рабочие		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	30	75	10	25	40	100
Контрольная n = 20	9 p = 0,022	45	11	55	20	100

Примечание. p – уровень статистической значимости различий между исследуемой и контрольной группами.

Большинство обследованных женщин были замужем (табл. 18).

Таблица 18 – Семейное положение обследованных женщин

Группы	Семейное положение					
	замужем		не замужем		всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	28	70,0	12	30,0	40	100,0
Контрольная n = 20	17	85,0	3	15,0	20	100,0

Курили 27,5 % женщин исследуемой группы и 15% – контрольной (p < 0,05).

Не употребляли алкоголь в исследуемой группе 22,5 % женщин, в контрольной – 25 %, редко употребляли алкоголь – 67,5 и 65 % соответственно. В исследуемой группе систематическое употребление алкоголя отмечалось у 0,5 % пациенток, в группе контроля систематическое употребление алкоголя не наблюдалось.

Акушерско-гинекологический анамнез

Особенности акушерско-гинекологического анамнеза обследованных женщин отражены в таблице 19.

Таблица 19 – Характер менструальной функции обследованных женщин

Группы	Показатель					
	Менархе					
	до 11 лет		11–14 лет		старше 14 лет	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	6	15*	34	85*	0	0
Контрольная n = 20	0	0	18	90	2	10

Примечание. Статистическая значимость различий с контрольной группой: * – $p < 0,05$.

Среди пациенток обеих групп становление менархе в большинстве случаев происходило в возрасте с 11 до 14 лет. Так, в контрольной группе этот показатель составил 90 %, а в исследуемой – 85 % ($p < 0,05$). Раннее наступление менархе имело место у больных с ФКМ. Позднее менархе (в 15 лет и старше) встречалось лишь у женщин группы контроля (табл. 20).

Таблица 20 – Продолжительность менструального цикла обследованных женщин.

Группа	Продолжительность менструального цикла					
	до 21 дня		21-35 дня		более 35 дней	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	0	0	40	100	0	0
Контрольная n = 20	0	0	20	100	0	0

У всех обследованных женщин менструальный цикл составлял 21–35 дней (табл. 21).

В большинстве случаев у женщин menses продолжалась в течение 3–7 дней (исследуемая группа – 100 %, контрольная – 90 %). В 10 % случаев имело место менструальное кровотечение до трех дней у женщин контрольной группы.

Таблица 21 – Длительность менструального кровотечения у обследованных женщин

Группа	Длительность менструального кровотечения, дни							
	до 3		3–5		5–7		более 7	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	0	0	19	47,5	21	52,5	0	0
Контрольная n = 20	2	10	10	50	8	40	0	0

Таким образом, для женщин с ФКМ, так же как и для контрольной группы, характерно своевременное наступление менархе, не сопровождающееся аномальными маточными кровотечениями.

Половая функция

Половая жизнь в возрасте до 17 лет отсутствовала у женщин обеих групп. Все обследованные начали половую жизнь после 18 лет. В возрасте 26 лет и старше начали половую жизнь 10 % женщин без заболеваний МолЖ. В группе с ФКМ начавших половую жизнь в 26 лет и старше не было.

Нерегулярная половая жизнь была у 40 % пациенток исследуемой группы и у 55 % – контрольной.

Отсутствие либидо отметили 50 % пациенток исследуемой группы и 20 % – контрольной. Нарушения оргазма в виде его снижения или отсутствия статистически значимо чаще имелись у женщины исследуемой группы, чем в в

контроле: у 47,5 и 20 % соответственно. Все пациентки имели постоянного партнера.

Итак, половая функция у обследованных характеризовалась началом половой жизни после 18 лет, у каждой второй женщины с ФКМ отмечалось нарушение оргазма и либидо.

5.2. Репродуктивное поведение

Методы контрацепции

Исследованные женщины использовали следующие методы контрацепции: внутриматочную контрацепцию (ВМК) – в исследуемой группе 22,5 % пациенток, в контрольной – 20 %; оральные контрацептивы – 7,5 и 5 % соответственно; механические средства контрацепции – 22,5 и 35 %; прерванный половой акт – 20 и 20 %; не использовали контрацептивные средства – 27,5 и 20 % (табл. 22).

Таблица 22 – Способы контрацепции, применяемые обследованными женщинами

Группы	Способы контрацепции									
	не применялись		барьерная		прерванный половой акт		оральные контрацептивы		ВМК	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	11	27,5	9	22,5	7	17,5	3	7,5	10	25
Контрольная n = 20	4	20	7	35	3	15	1	5	5	25

Таким образом, женщины с ФКМ отдавали предпочтение при контрацепции ВМК (1-е место), механическим средствам контрацепции (2-е место), прерванному половому акту (3-е место) и оральным контрацептивам (4-е место). Пациентки контрольной группы использовали контрацепцию:

механическими средствами (1-е место), ВМК (2-е место), прерванный половой акт (3-е место), оральные контрацептивы (4-е место). Не предохранялись от беременности 27,5 % женщин исследуемой группы и 20 % в контроле.

Детородная функция

Результаты оценки детородной функции обследованных представлены в таблице 23. Первая беременность у женщин с ФКМ наступила в среднем в 22,1 года, а у пациенток группы контроля – в возрасте 19,2 года.

Каждая пациентка исследуемой группы в среднем имела 3,8 беременности (150 беременностей на 40 женщин), в контрольной группе – 2,8 (60 беременностей на 20 женщин). Таким образом, реже беременели женщины контрольной группы (табл. 24).

Таблица 23 – Детородная функция обследованных женщин

Группы	Количество беременностей				среднее количество беременностей
	1–2 беременности		3 беременности и более		
	абс.	%	абс.	%	$M \pm m$
Исследуемая n = 40	20	50,0	20	50,0	3,8 ± 2,89
Контрольная n = 20	9	45	11	55	2,8 ± 2,25

Таким образом, очевидно, важную роль в развитии патологии МолЖ играло прерывание первой беременности. Нерожавшие женщины были только среди пациенток контрольной группы. Одни роды чаще были также у женщин контрольной группы. Каждая женщина исследуемой группы в среднем имела 1,57 роды (общее количество родов – 63 на 40 женщин), контрольной – 1,66 родов (всего 30 родов на 20 женщин). Следовательно, количество родов у женщин обеих групп статистически значимо не различалось.

Каждая пациентка исследуемой группы в среднем сделала 1,9 аборта (76 аборт на 40 женщин), контрольной – 1 (20 аборт на 20 женщин). То есть частота выполнения медицинских аборт в группе с ФКМ была выше, чем в группе женщин без заболеваний МолЖ.

У каждой женщины с ФКМ в среднем произошли 0,63 выкидыша (11 выкидышей на 40 женщин), у группе контроля – 0,66 выкидыша (6 выкидышей на 20 женщин) (табл. 24).

После родов не кормили ребенка грудью статистически значимо чаще женщины с ФКМ. Кормление детей грудью до 3 месяцев и от 3 до 6 месяцев чаще отмечалось у женщин контрольной группы (исследуемая группа – 7,4 %, контрольная – 22,2 %; $p < 0,05$), а лактация больше года чаще наблюдалась у пациенток с ФКМ (77,7 и 33,3 % соответственно; $p < 0,05$). Послеродовый мастит статистически значимо чаще имелся у пациенток с ФКМ (табл. 25).

Таблица 25 – Частота грудного вскармливания и наличия мастита у обследованных женщин

Группы	Лактация				Средняя продолжительность грудного вскармливания, мес.	Лактационный мастит	
	да		нет			абс.	%
	абс.	%	абс.	%			
Исследуемая n = 40	27	67,5	13	32,5	9,25 ± 5,1	26	65,0
Контрольная n = 20	18	90,0	2	10,0	10,4 ± 9,76 p = 0,05	4 p = 0,0011	20,0

Примечание: p – уровень статистической значимости различий между исследуемой и контрольной группами.

Таким образом, пациентки с ФКМ имели следующие особенности: частое выполнение медицинских аборт (на одни роды приходилось в среднем два медицинских аборт), снижение частоты рождаемости, отсутствие послеродовой лактации, послеродовый мастит.

Таблица 24 – Репродуктивная функция обследованных женщин

Группы	Показатели											
	Мед. аборты		Среднее количество абортов	Самопроизвольные выкидыши		Среднее количество выкидышей	Роды		Среднее количество родов	Внематочные беременности		Среднее количество внематочных беременностей
	абс.	%	М ± m	абс.	%	М ± m	абс.	%	М ± m	абс.	%	М ± m
Исследуемая n = 40	21	52,5	1,9 ± 1,75	7	17,5	0,63 ± 0,84	40	100,0	1,57 ± 0,71	6	15	0,15 ± 0,36
Контрольная n = 20	10	50	1 ± 1,29	4	20,0	0,66 ± 0,65	18	90,0	1,66 ± 0,68	0	0	0

Гинекологическая заболеваемость

В анамнезе у пациенток имели место различные гинекологические заболевания (табл. 26).

Таблица 26 – Частота и структура гинекологических заболеваний в исследуемых группах

Группы	Показатель											
	Внутренний эндометриоз		ВЗОМТ		Гиперплазия эндометрия		Лейомиома матки		Киста яичника		Спаечный процесс малого таза	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	9	22,5	12	30	25	62,5	18	45	2	5	10	25
Контрольная n = 20	4	20	4	20	4 p=0,002	20	7	35	1	5	2	10

Примечание: p – уровень статистической значимости различий между исследуемой и контрольной группами.

Гиперплазия эндометрия (ГПЭ) наблюдалась статистически значимо чаще в группе с ФКМ (исследуемая группа – 62,5 %; контрольная – 20 %; $p < 0,05$). Лейомиома матки также чаще встречалась у больных с ФКМ, чем у лиц в контрольной группы (исследуемая группа – 45%; контрольная – 35 %). Сочетание миомы матки с ГПЭ имело место у каждой третьей пациентки с ФКМ, а в контрольной группе – лишь в одном случае. Воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ) чаще встречались у женщин исследуемой группы – 30 %; в контроле – у 20 %). Спаечный процесс малого таза также статистически значимо чаще наблюдался в группе с ФКМ (исследуемая группа – 25 %, контрольная – 10 %).

Инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), чаще перенесли женщины с ФКМ (исследуемая группа – 30 %; контрольная группа – 25 %; $p = 0,46$) (табл. 27).

Таблица 27 – Результаты обследования на урогенитальную инфекцию методом полимеразно-цепной реакции

Группы	Показатели							
	Ureaplasma spp.		Neisseria gonorrhoeae		Chlamydia trachomatis		HPV	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	2	5	3	7,5	4	10	3	7,5
Контрольная n = 20	1	5	1	5	1	5	2	10

Таким образом, в гинекологическом анамнезе женщин с ФКМ были следующие особенности: лейомиома матки (45 %), сочетание лейомиомы матки с ГПЭ (32 %), гиперпластические процессы эндометрия (62,5 %), внутренний эндометриоз (22,5 %), воспалительные заболевания матки и придатков (30 %), ИППП (30 %), доброкачественные опухоли яичников (5 %).

Оперативное лечение больных с лейомиомой матки, лейомиомой матки в сочетании с ГПЭ в объеме субтотальной гистерэктомии или тотальной гистерэктомии чаще выполнялось больным с ФКМ (исследуемая группа – 12,5 %; контрольная группа – 5 %).

Женщинам с ФКМ и группы контроля с ВЗОМТ проводилась антибактериальная, противовоспалительная и иммунотерапия.

Кистозные доброкачественные образования яичников (исследуемая группа – 5 %; контрольная группа – 5 %) встречались с одинаковой частотой в обеих группах.

Итак, высокий риск развития патологии МолЖ выявлен у женщин при наличии в анамнезе следующих факторов: сочетание лейомиомы матки с ГПЭ;

воспалительные заболевания гениталий и ИППП; гиперпластические процессы эндометрия; воспалительные заболевания МолЖ.

Экстрагенитальные заболевания

У женщин с ФКМ среди экстрагенитальных заболеваний на первом месте находились болезни органов кровообращения (45 %), на втором – болезни органов пищеварения (20 %), на третьем – болезни мочеполовой системы (12,5 %), на четвертом – болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани (7,5 %), на пятом – болезни органов дыхания (5 %) и болезни эндокринной системы (5 %), на шестом – болезни глаза и его придаточного аппарата (2,5 %) (табл. 29).

В структуре экстрагенитальных заболеваний у женщин контрольной группы на первом месте находились болезни органов кровообращения (25 %), органов пищеварения (25 %), на втором – болезни эндокринной системы (10 %), среди которых в основном были заболевания поджелудочной железы, органов дыхания (10 %), костно-мышечной системы и соединительной ткани (10 %) и мочеполовой системы (10 %) (табл. 28).

При сравнении заболеваемости женщин в обеих группах было выявлено, что чаще у пациенток встречались сердечно-сосудистые заболевания и заболевания органов пищеварения. С почти одинаковой частотой в сравниваемых группах встречались болезни мочеполовой, болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани. Болезни эндокринной системы встречались с равной частотой в обеих группах.

Итак, патология МолЖ чаще развивалась на фоне сердечно-сосудистых заболеваний, болезней органов пищеварения, мочевыделительной системы, органов дыхания, а также заболеваний эндокринной системы.

Таблица 28 – Частота и структура экстрагенитальных заболеваний обследованных женщин

Группы	IV. Болезни эндокринной систем		X. Болезни органов дыхания		VII. Болезни глаза и его придаточного аппарата		XIII. Болезни костно- мышечной системы		IX. Болезни системы кровообращения		XI. Болезни органов пищеварения		XIV. Болезни мочеполовой системы	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Исследуемая n = 40	4	10	2	5	1	2,5	3	7,5	18	45	8	20	5	12,5
Контрольная n = 20	2	10	2	10	0	0	2	10	5	25	5	25	2	10

5.3. Состояние молочных желез

Всем женщинам было выполнено комплексное обследование МолЖ, включающее в себя пальпацию МолЖ и регионарных лимфатических узлов, ультразвуковое исследование, маммографию, осмотр маммолога. При необходимости маммолог назначал цитологическое исследование секрета МолЖ с пункцией и цитологическим исследованием пунктата.

Пациентки с ФКМ отмечали ноющие тупые боли в МолЖ, дающие ощущение распирания и тяжести. Пальпация МолЖ часто была чувствительной или болезненной. Определялись единичные или множественные уплотнения МолЖ. Кожа, подкожная клетчатка, сосок и ареола в процесс уплотнения не вовлекались.

Ультразвукового исследования (УЗИ) МолЖ выполнено 60 женщинам, из них 40 пациенткам исследуемой группы и 20 – контрольной. При УЗИ МолЖ у женщин исследуемой группы были выявлены диффузные изменения в МолЖ, округлые или овальные уплотнения. Диаметр кистозных образований колебался от 0,3 до 1,6 мм. Все они имели четкие и ровные контуры. Наличие более выраженных фиброзных-кистозных изменений чаще отмечалось у пациенток с ГПЭ, лейомиомой матки и эндометриозом.

В результате проведенного УЗИ у пациенток с ФКМ выявлены изменения МолЖ в виде диффузной ФКМ с преобладанием кистозного компонента (90 %) или смешанная форма ФКМ (10 %) и соответствовали BI-RADS 2.

У женщин контрольной группы наблюдались возрастные изменения МолЖ в виде инволюции и жирового разрастания.

Всего выполнено 60 маммограмм, из них 40 пациенткам исследуемой группы и 20 – контрольной.

Консультированы врачом онкологом-маммологом ОБУЗ «Ивановский онкологический диспансер» 100% женщин с ФКМ. Пункционная биопсия с цитологическим исследованием была выполнена 45 % женщинам с ФКМ. Секторальная резекция МолЖ с последующим гистологическим исследованием

выполнена 7,5 % пациенткам с ФКМ, в 100% случаев имели место фиброзно-кистозные изменения.

В результате комплексного обследования фиброзно-кистозные изменения в МолЖ чаще встречались у больных с ГПЭ, лейомиомой матки, внутренним эндометриозом и реже – с ВЗОМТ (табл. 27).

5.4. Климактерический и предменструальный синдромы у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией

Климактерический синдром чаще имел место у женщин с ФКМ: в исследуемой группе – у 80 %, в контрольной – у 17,5 % ($p < 0,05$). Выраженность КС оценивалась по постменопаузальному индексу Куппермана (табл. 29).

При оценке симптомокомплексов менопаузального индекса Куппермана преобладали слабо выраженные симптомы в обеих группах (47,5 и 12,5 %; $p < 0,05$) и умеренно выраженные симптомы (37,5 и 5 %; $p < 0,05$), тяжелые симптомы течения были отмечены в 7,5 % случаев только у пациенток с ФКМ.

В анамнезе обследованных также были жалобы на проявления предменструального синдрома: в исследуемой группы – у 75 %, в контрольной – у 30 %.

Таблица 29 – Оценка менопаузального индекса Куппермана у обследованных женщин

Степень выраженности симптомов	Исследуемая группа		Контрольная группа	
	абс.	%	абс.	%
Отсутствуют	3	7,5	13	65
Слабо выражены	19	47,5	5	25
Умеренно выражены	15	37,5	2	10
Тяжелые	3	7,5	0	0

Клинические формы ПМС представлены в таблице 30. Согласно полученным данным ПМС у большинства женщин обеих групп проявлялся в смешанной форме. На втором месте по частоте встречаемости у больных с ФКМ находилась нервно-психическая форма, реже предменструальное напряжение проявлялось в виде отечной и цефалгической формы. В одном случае выявлена кризовая форма предменструального синдрома у пациентки исследуемой группы. В контрольной группе цефалгическая, отечная и кризовая формы ПМС не встречались.

Таблица 30 – Клинические формы синдрома предменструального напряжения у обследованных женщин

Формы предменструального синдрома	Обследуемые группы женщин			
	исследуемая		контрольная	
	абс.	%	абс.	%
Цефалгическая	2	6,66	0	0
Нервно-психическая	9	30	2	33,34
Отечная	8	26,67	0	0
Кризовая	1	3,33	0	0
Смешанная	10	33,34	4	66,66
Всего	30	100	6	0

Итак, риск возникновения патологии МолЖ увеличивается у женщин при наличии в анамнезе следующих факторов:

- предменструальный синдром;
- сочетание лейомиомы матки с ГПЭ;
- воспалительные заболевания гениталий и ИППП;
- гиперпластических процессов эндометрия;
- большего количества абортов;
- маститов.

Наличие в анамнезе данных заболеваний подтверждает ведущую роль в этиологии патологии МолЖ нейроэндокринных нарушений.

Исходя из этого, можно утверждать наличие связи гинекологических заболеваний с заболеваниями МолЖ, в частности с ФКМ. Наличие ФКМ делает необходимым диспансерный учет и лечение фоновых заболеваний.

5.5. Особенности течения климактерического синдрома у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией

Для диагностики и оценки тяжести проявления КС использовался постменопаузальный индекс Купермана в модификации Е. В. Уваровой (1983). Данный индекс основывается на анализе вегетативных, метаболических и психоэмоциональных изменений в период менопаузы. Оценку менопаузального индекса проводили дважды в исследуемой группе, до и после применения 7-ОН-МР. Были получены следующие результаты (табл. 31, 32, рис. 17).

Одними из ведущих проявлений КС у женщин исследуемой и контрольной групп были приливы (85 и 35 % соответственно; $p < 0,05$), преимущественно легкой (65 и 25 %; $p < 0,05$) и средней (17,5 и 10 %) степени тяжести, в 2,5 % случаев в исследуемой группе отмечалась тяжелая форма приливов.

Таблица 31 – Выраженность приливов у пациенток обеих групп до лечения 7-гидроксиматаирезином

Приливы	До лечения 7-ОН-МР			
	исследуемая группа		контрольная группа	
	абс.	%	абс.	%
Легкая степень	26	65	5	25
Средняя степень	7	17,5	2	10
Тяжелая степень	1	2,5	0	0

При оценке симптомокомплексов менопаузального индекса преобладали у пациенток исследуемой и контрольной групп слабо выраженные (47,5 и 12,5 % соответственно; $p < 0,05$) и умеренно выраженные (37,5 и 5 % соответственно; $p < 0,05$) симптомы, у 7,5 % женщин исследуемой группы были отмечены

тяжелые симптомы течения КС. После терапии 7-ОН-МР лишь у 20 % пациенток исследуемой группы остались проявления КС в слабо выраженной форме.

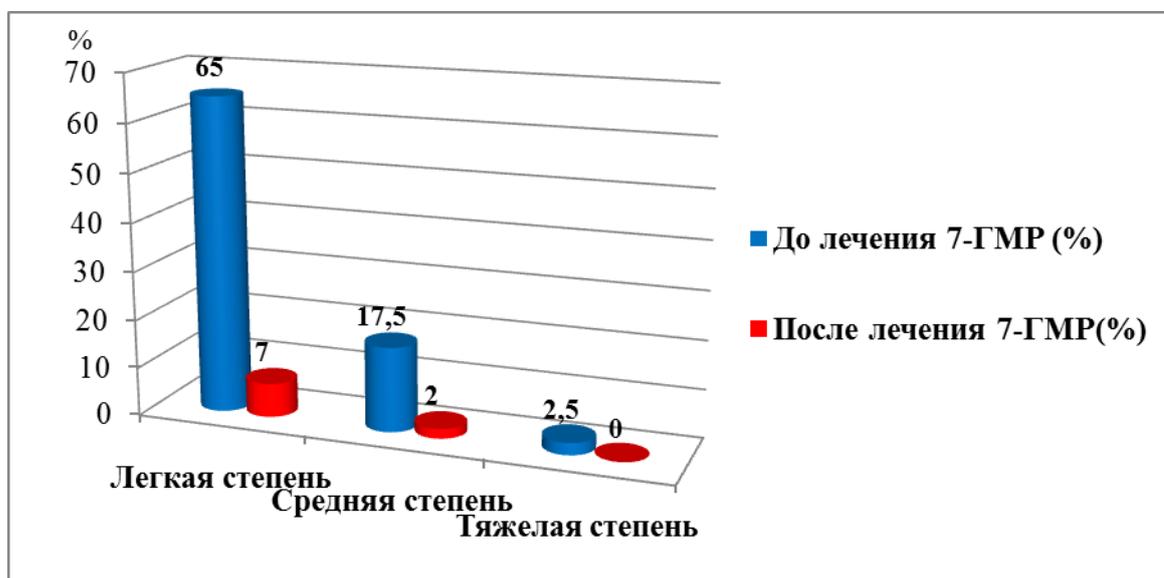


Рисунок 17 – Выраженность приливов у пациенток исследуемой группы до и после лечения 7-гидроксиматаирезиномом

Таблица 32 – Оценка менопаузального индекса Куппермана до лечения 7-гидроксиматаирезиномом

Индекс Купермана	До лечения 7-ОН-МР			
	исследуемая группа		контрольная группа	
	абс.	%	абс.	%
Слабо выраженные	19	47,5	5	12,5
Умеренно выраженные	15	37,5	2	5
Тяжелые	3	7,5	0	0

У пациенток со слабо выраженными проявлениями КС отмечалось их исчезновение в 45 % случаев, в 2,5 % – симптомокомплексы оставались слабо выраженными, хоть и меньшей интенсивности. У женщин с умеренно выраженными проявлениями в 7,5 % случаев имелась положительная динамика с уменьшением интенсивности симптомокомплексов до слабо выраженных, в 30 % случаев проявления КС исчезли полностью. У 7,5 % обследованных с

выраженным клиническим симптомокомплексом отмечена положительная динамика (слабо выраженные проявления) (рис. 18).

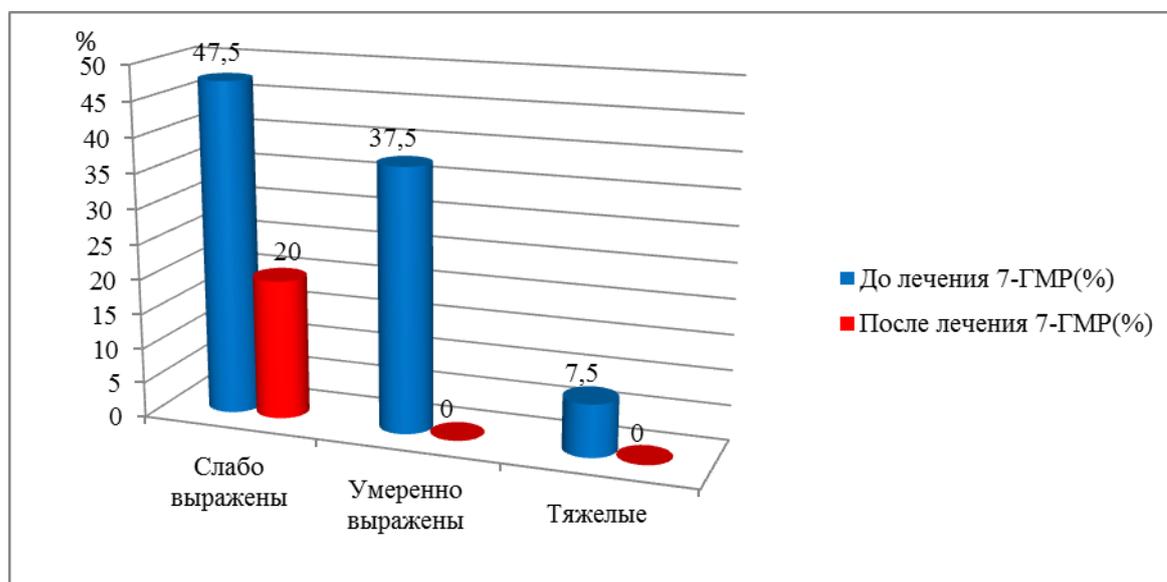


Рисунок 18 – Оценка менопаузального индекса Куппермана до и после лечения 7-гидроксиматаирезиномом

По результатам оценки сексуального статуса отсутствие либидо отметили 30 % пациенток исследуемой группы и 20 % – контрольной. Нарушения оргазма в виде его снижения или отсутствия статистически значимо чаще имели место у женщин исследуемой группы (47,5 %) в сравнении с контролем (30 %). Снижение возбуждения чаще также наблюдалось у женщин исследуемой группы – 85 %, в группе контроля – у 52,5 %. Удовлетворенность сексуальной жизнью преобладала у женщин контрольной группы (в исследуемой группе – у 22,5 %; в контрольной – у 40 %) (табл. 33).

После терапии 7-ОН-МР отмечалось повышение удовлетворенностью сексуальной жизнью в исследуемой группе у 40 % женщин; уменьшились жалобы на нарушение либидо – у 17,5 %, нарушение оргазма – у 30 % и снижение возбуждения – у 52,5 %.

Таблица 33 – Сексуальный статус женщин до и после лечения 7-гидроксиматаирезином

Оценка женской сексуальной функции	До лечения 7-ОН-МР				После лечения 7-ОН-МР	
	исследуемая группа		контрольная группа		исследуемая группа	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Снижение/отсутствие либидо	12	30	4	20	7	17,5
Нарушение оргазма	19	47,5	6	30	12	30
Снижение возбуждения	34	85	10	50	21	52,5
Удовлетворенность сексуальной жизнью	9	22,5	8	40	16	40

5.6. Особенности течения фиброзно-кистозной мастопатии на фоне применения 7-гидроксиматаирезинола

Объективно положительная динамика лечения определялась при осмотре, пальпации и УЗИ МолЖ. Критериями эффективности применения 7-ОН-МР были: уменьшение симптомов масталгии, отека, неоднородности структуры МолЖ, снижение эхогенности ткани, уменьшение диаметра кист и млечных протоков до 2–3 мм и улучшение выраженности соединительнотканного рисунка.

Оценка тяжести масталгии у женщин также оценивалась в балльной системе. В исследуемой группе признаки масталгии отмечались в 80 % случаев, в группе контроля – только в 35 %.

Слабую болезненность в МолЖ до лечения отмечали 37,5 % пациенток исследуемой группы. Умеренный болевой синдром имелся у 43,75 %, выраженная масталгия – у 18,75 % женщин исследуемой группы. После курса

терапии 7-ОН-МР отмечена положительная динамика в виде уменьшения проявлений масталгии в исследуемой группе (табл. 34). Через три месяца после лечения выраженная болезненность в МолЖ сохранялась лишь у 3,85 % пациенток исследуемой группы, умеренно выраженная болезненность – у 23,07 %. После шести месяцев наблюдения отметилась положительная динамика в виде полного исчезновения выраженного и умеренно выраженного болевого синдрома в исследуемой группе, у 34,37 % женщин сохранялась слабо выраженная масталгия.

Таблица 34 – Выраженность масталгии до и после лечения 7-гидроксиматаирезином у пациенток исследуемой группы

Выраженность масталгии	До лечения 7-ОН-МР		После лечения 7-ОН-МР			
			Через 3 мес.		Через 6 мес.	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Слабая	12	37,5	19	73,08	11	100
Умеренно выраженная	14	43,75	6	23,07	0	0
Тяжелая	6	18,75	1	3,85	0	0
Всего	32	100	26	100	11	100

Мастопатия с преобладанием кистозного компонента встречалась у 90 % обследованных, у 10 % – смешанная форма ФКМ. Положительная динамика через 3 и 6 месяцев после начала лечения отмечена у 37,5 и 67,5 % пациенток соответственно. Через 3 месяца с момента приема 7-ОН-МР полностью исчезли кистозные образования и уменьшилось число уплотнений в МолЖ у 10 % наблюдаемых, у 27,5 % отмечена тенденция к уменьшению кистозных образований. Через 6 месяцев кистозные образования полностью рассосались еще у 7,5 % женщин, у 50 % пациенток также отмечено статистически значимое уменьшение кистозных образований в МолЖ. Объективная динамика состояния МолЖ через 3 и 6 месяцев после начала приема 7-ОН-МР у пациенток с ФКМ представлена на рисунке 19.

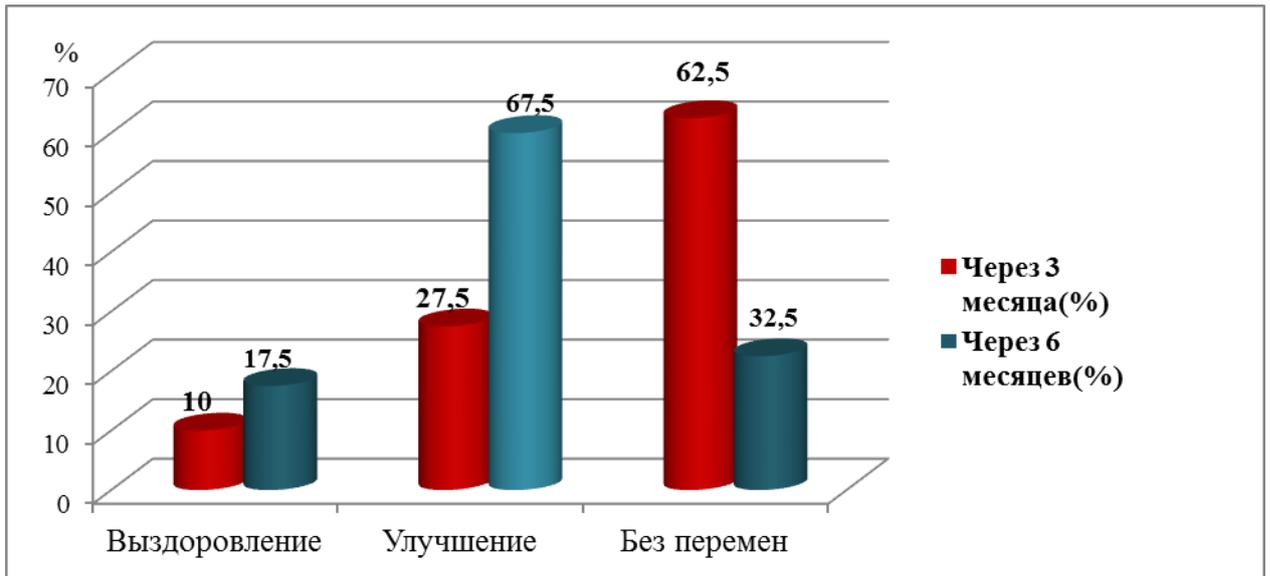


Рисунок 19 – Объективная динамика состояния молочных желез через 3, 6 месяцев после приема 7-гидроксиматаирезинолом

Наилучший эффект от лечения был получен через 6 месяцев после приема 7-ОН-МР: у 67,5 % женщин исследуемой группы объективно констатирована положительная динамика (рис. 20).

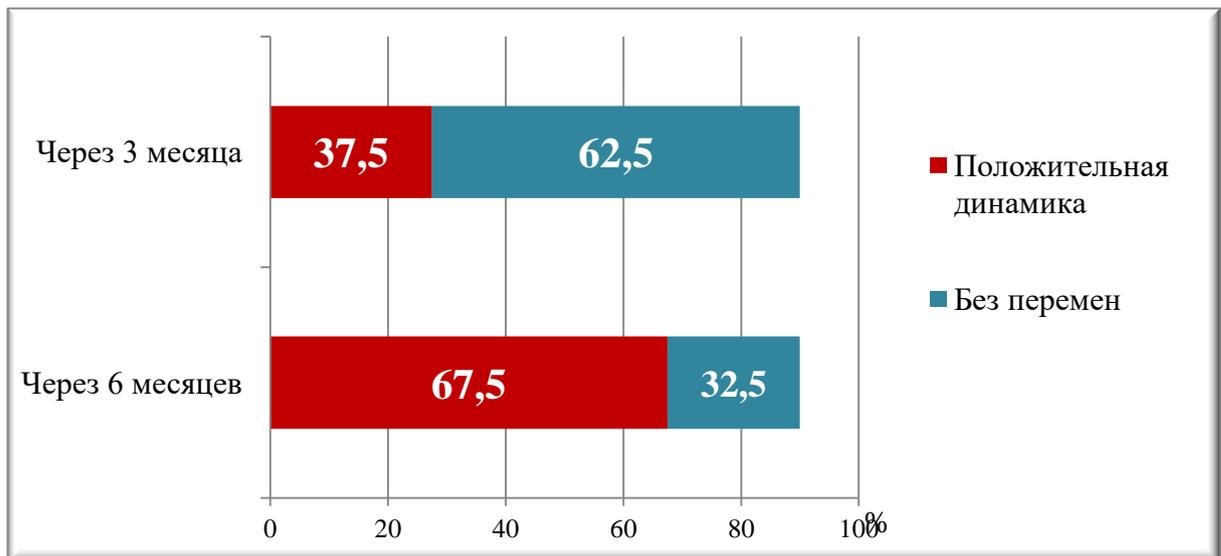


Рисунок 20 – Объективная динамика состояния молочных желез через 3, 6 месяцев после приема 7-гидроксиматаирезинолом

5.7. Резюме к главе 5

Пик заболеваемости ФКМ приходился на возраст 41–50 лет ($n = 25$, 62,5 %).

Две трети пациенток из исследуемой и контрольной групп имели высшее образование, треть пациенток – среднее специальное.

У пациенток обеих групп становление менструальной функции в большинстве случаев происходило в возрасте с 11 до 14 лет: у пациенток с ФКМ (исследуемая группа) – 85%, у женщин без заболеваний МолЖ (контрольная группа) – 90 %. Раннее наступление менархе имело место у больных с ФКМ. Позднее менархе (в 15 лет и старше) встречалось лишь у женщин группы контроля.

Особенностями половой функции женщин обеих групп являлось начало половой жизни после 18 лет, у каждой второй женщины с ФКМ отмечалось нарушение оргазма и либидо. Эти результаты могут говорить о том, что сексуальные нарушения также являются фактором риска развития гиперпластических процессов МолЖ.

Исследованные женщины использовали следующие методы контрацепции: ВМК – в исследуемой группе 22,5 %, в контрольной – 20 %; гормональные контрацептивы – 7,5 и 5 % соответственно; механические средства контрацепции – 22,5 и 35 %; прерванный половой акт – 20 и 20 %; не использовали контрацептивные средства – 27,5 и 20 %.

Особенностями детородной функции женщин являлось: прерывание первой беременности (в исследуемой группе – 52,5,0 %, в контрольной – 50,0 %), чаще у больных ФКМ; отсутствие послеродовой лактации (32,5 и 10 % соответственно; $p < 0,05$), кратковременное кормление ребенка грудью (от 1-го до 6-ти месяцев) (14,81 и 55,5 %; $p < 0,05$); наличие послеродового мастита (65,0 и 20,0 %; $p < 0,05$).

Таким образом, женщины с патологией МолЖ статистически значимо чаще прерывали беременность, имели нарушения (отсутствие или кратковременная) и осложнения лактации (мастит).

Результаты нашего исследования отражают снижение фертильной активности женщин, что, возможно, также может являться одной из причин развития заболеваний МолЖ.

Среди ученых есть мнение, что характер послеродовой лактации тесно связан с состоянием МолЖ в последующем [10, 15, 26, 49, 51, 55, 79]. Поэтому можно предположить, что коротковременный (до 6 месяцев) период грудного вскармливания может стать причиной развития мастопатии.

По данным ряда авторов, сочетание заболеваний МолЖ и гинекологических заболеваний встречается от 57 до 97,8 % случаев [7, 17, 30, 40, 43, 48, 62].

Из гинекологических заболеваний ГПЭ наблюдалась статистически значимо чаще в группе с ФКМ, чем в контроле (62,5 и 20 % соответственно). Лейомиома матки также чаще имела место у больных с ФКМ, чем у пациенток в контрольной группе (45 и 35 %).

Сочетание миомы матки с ГПЭ имело место у каждой третьей больной с ФКМ (см. табл. 27), а в контрольной группе встречалось лишь в одном случае.

ВЗОМТ чаще имели место у женщин исследуемой группы (в исследуемой группе 30 %, в контрольной – 20 %). Спаечный процесс малого таза также чаще встречался в группе с ФКМ (25 и 10 %).

ИППП чаще имели женщины с ФКМ (в исследуемой группе 30 %, в контрольной – 25 %).

Таким образом, высокий риск возникновения ФКМ имеется у женщин при наличии в анамнезе следующих факторов: ПМС; сочетание лейомиомы матки с ГПЭ; гиперпластические процессы эндометрия; ВЗОМТ и ИППП; воспалительные заболевания МолЖ.

Из экстрагенитальных заболеваний у пациенток с ФКМ чаще встречались болезни системы кровообращения (в исследуемой группе – 45 %, в контрольной

– 25 %; $p < 0,05$), пищеварения (20,0 и 25,0 %), мочеполовой системы (12,5 и 10,0%), эндокринной системы (10 и 10 % соответственно).

На основании полученного материала можно сделать вывод, что заболевания МолЖ у женщин с гинекологической патологией являются мультифакторными. К факторам, имеющим важное значение, относятся: нарушение менструальной, сексуальной и детородной функций, отягощенность гинекологического анамнеза (нейроэндокринные нарушения и воспалительные процессы в гениталиях), наличие экстрагенитальных заболеваний (системы кровообращения), психоэмоциональные нарушения. Высокий риск развития заболеваний МолЖ у женщин возникает на фоне ГПЭ, лейомиомы матки.

Одними из ведущих проявлений КС у женщин обеих групп наблюдались приливы (85 и 35 %; $p < 0,05$), преимущественно легкой (65 и 25 %; $p < 0,05$) и средней (17,5 и 10 %) тяжести, в 2,5 % случаев в исследуемой группе отмечалась тяжелая форма приливов.

При оценке симптомокомплексов менопаузального индекса у женщин исследуемой и контрольной групп преобладали слабо выраженные (47,5 и 12,5 % соответственно; $p < 0,05$) и умеренно выраженные симптомы (37,5 и 5 %; $p < 0,05$), в 7,5 % случаев в исследуемой группе были отмечены тяжелые симптомы течения КС. После терапии 7-ОН-МР лишь у 20 % пациенток исследуемой группы остались проявления КС в слабо выраженной форме.

У женщин со слабо выраженными проявлениями КС отмечалось их исчезновение в 45 % случаев, у 2,5 % пациенток симптомокомплексы оставались слабо выраженными, хоть и меньшей интенсивности. У обследованных с умеренно выраженными проявлениями в 7,5 % случаев отмечена положительная динамика с уменьшением интенсивности симптомокомплексов до слабо выраженных, в 30 % случаев проявления КС исчезли полностью. У 7,5 % женщин с выраженным клиническим симптомокомплексом выявлена положительная динамика (слабо выраженные проявления).

По результатам оценки сексуального статуса отсутствие либидо отметили 30 % пациенток исследуемой группы и 20 % – контрольной. Нарушения оргазма

в виде его снижения или отсутствия статистически значимо чаще имели место у пациенток исследуемой группы (47,5 %) в сравнении с контрольной (30 %). Снижение возбуждения чаще также имело место у 85 и у 52,5 % женщин соответственно. Удовлетворенность сексуальной жизнью преобладала у женщин контрольной группы (в исследуемой группе – 22,5 %, в контрольной – у 40 %).

После терапии 7-ОН-МР отмечалось повышение удовлетворенностью сексуальной жизнью в исследуемой группе у до 40 % женщин; уменьшились жалобы на нарушение либидо – у 17,5 %, нарушение оргазма – у 30 % и снижение возбуждения – у 52,5 %.

У 90 % обследованных имела место мастопатия с преобладанием кистозного компонента, у 10 % – смешанная форма ФКМ.

У 80 % пациенток исследуемой группы отмечались признаки масталгии, в группе контроля – у 35 %. В исследуемой группе слабую болезненность в МолЖ до лечения отмечали 37,5 % пациенток, умеренную – 43,75 %, выраженная масталгия наблюдалась у 18,75 %. После курса терапии 7-ОН-МР отмечена положительная динамика в виде уменьшения проявлений масталгии. Через 3 месяца после лечения выраженная болезненность в МолЖ сохранялась лишь у 3,85 % пациенток исследуемой группы, умеренно выраженная – у 23,07 %. После 6 месяцев наблюдения отмечена положительная динамика в виде полного исчезновения выраженного и умеренно выраженного болевого синдрома в исследуемой группе, у 34,37 % женщин сохранялась слабо выраженная масталгия.

Через 3 месяца с момента приема 7-ОН-МР полностью исчезли кистозные образования в МолЖ у 10 % наблюдаемых, у 27,5 % отмечена тенденция к уменьшению кистозных образований. Через 6 месяцев кистозные образования полностью рассосались еще у 7,5 % наблюдаемых, у 50 % женщин также отмечено статистически значимое уменьшение кистозных образований в МолЖ. Наилучший эффект от лечения был получен через 6 месяцев после приема 7-ОН-МР. Положительная динамика объективно констатирована у 67,5 % женщин с ФКМ.

Глава 6. ОЦЕНКА ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА И ЛИПИДНОГО ПРОФИЛЯ У ЖЕНЩИН С ФИБРОЗНО-КИСТОЗНОЙ МАСТОПАТИЕЙ

6.1. Анализ взаимодействий уровней эстрогенов с другими клинико-лабораторными показателями пациенток

В ходе проведения исследования была собрана информация о возрасте, анамнезе, уровнях различных метаболитов эстрогенов до и после приема 7-ОН-МР. Метрическая диаграмма, отражающая взаимодействия между исследованными параметрами, представлена на рисунке 21.

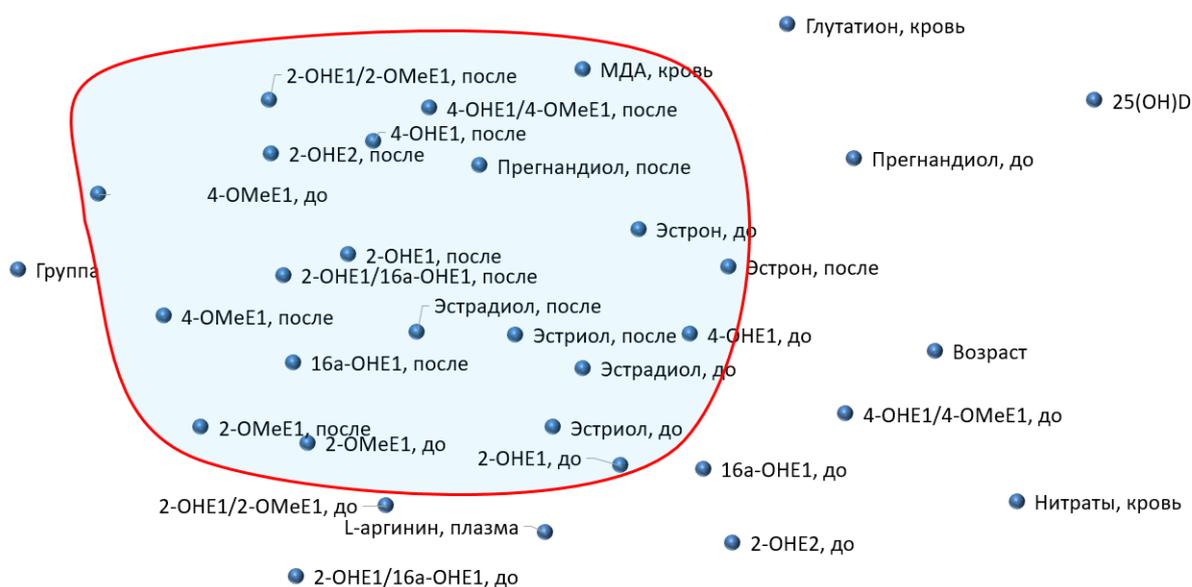


Рисунок 21 – Метрическая диаграмма взаимодействий между показателями метаболизма эстрогенов и другими клинико-лабораторными параметрами

Примечание. Расстояние между любой парой точек на диаграмме соответствует степени «взаимодействия» показателей: чем ближе точки, тем сильнее взаимодействуют (коррелируют) соответствующие показатели. Практически все метаболиты эстрогенов вошли в центральный кластер взаимодействий параметров. «Группа» – числовой параметр, отражающий основной диагноз пациентки (0 – контрольная группа, 1 – ФКМ).

Метрическая диаграмма показывает, корреляции между уровнями различных эстрогенов образуют единственный кластер. В центре кластера расположены точки, соответствующие уровням основных метаболитов эстрогенов (эстрадиола и эстриола). Точки, лежащие вне кластера (уровни прегнандиола, 25(OH)D, глутатиона, нитраты и др.), гораздо слабее взаимодействуют с уровнями метаболитов эстрогенов, чем уровни метаболитов эстрогенов друг с другом [41].

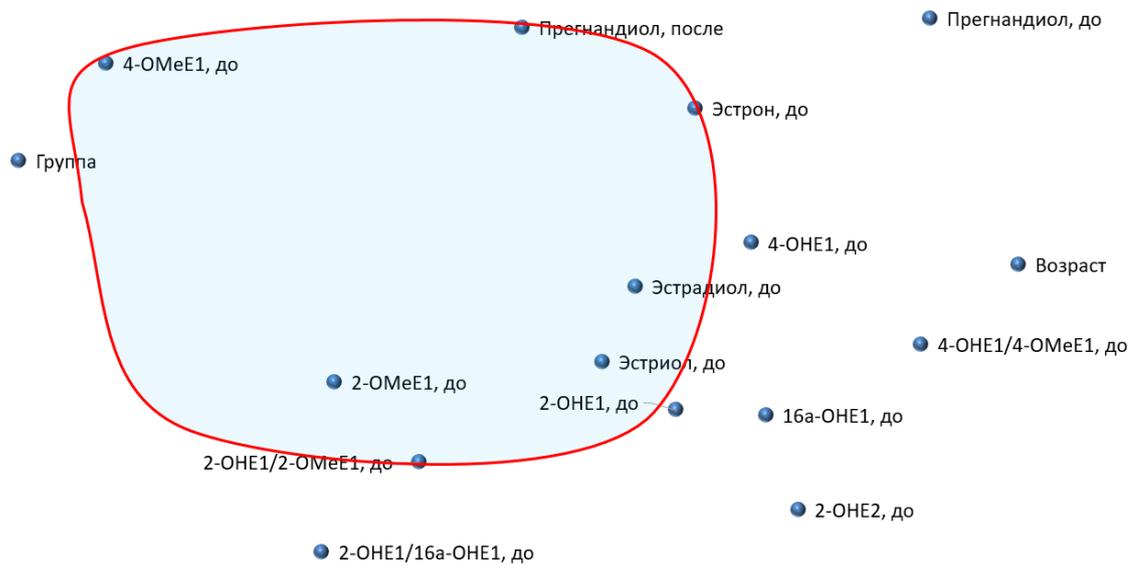
В результате исследования содержания метаболитов эстрогенов у пациенток с ФКМ выявлена гиперэстрогения в виде увеличения концентрации эстрадиола (ФКМ – $16,34 \pm 4,1$ мкг/сут; контроль – $3,09 \pm 0,17$ мкг/сут) и эстрона ($22,9 \pm 9,48$ и $3,38 \pm 0,53$ мкг/сут соответственно). Как известно, главными индукторами гормонозависимой пролиферации служат именно активные метаболиты эстрогена. Метаболитами эстрона являются два его гидроксипроизводных: 2-гидроксиэстрон (2-OHE1) и 16 α -гидроксиэстрон (16 α -OHE1), соотношение которых имеет ключевое значение в развитии пролиферативных процессов в МолЖ.

Метаболиты 2-OHE1 и 16 α -OHE1 являются важными биомаркерами риска развития эстрогенозависимых опухолей. В частности, при повышении уровня 2-OHE1 наблюдается усиление гибели опухолевых клеток *in vitro*. Эксперименты *in vivo* показали, что отношение концентраций 2-OHE1/16 α -OHE1 является полезным биомаркером для оценки риска развития эстрогенозависимых опухолей. Значение 2-OHE1/16 α -OHE1 более 2,0 соответствует сниженному риску развития ФКМ, РМЖ, эндометриоза, дисплазии и РШМ, колоректального рака.

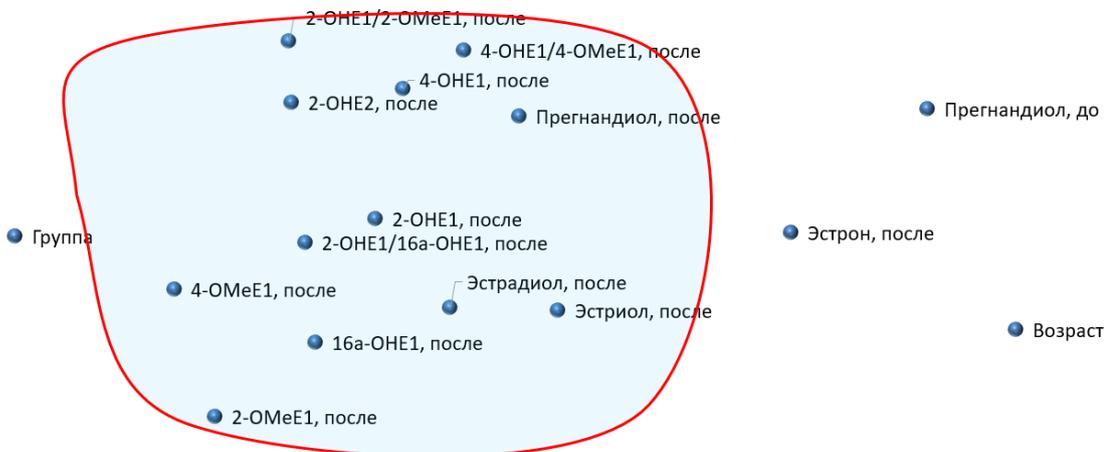
Средний уровень метаболита 2-OHE1 в группах обследованных находился в пределах референсных значений (ФКМ – $4,52 \pm 0,48$ мкг/сут; контроль – $5,03 \pm 0,16$ мкг/сут; $p > 0,05$). Соотношение метаболитов 2-OHE1/16 α -OHE1 в группах статистически значимо не различалось (ФКМ – $1,58 \pm 0,08$ мкг/сут; контроль – $2,0 \pm 0,09$ мкг/сут). По сравнению с группой пациенток с ФКМ более высокий уровень агониста рецепторов эстрогенов 4-OHE1 выявлен у женщин группы контроля ($2,13 \pm 0,27$ мкг/сут, ФМК – всего $0,97 \pm 0,07$ мкг/сут).

6.2. Динамика концентраций метаболитов эстрогенов у пациенток, получавших 7-гидроксиматаирезинол

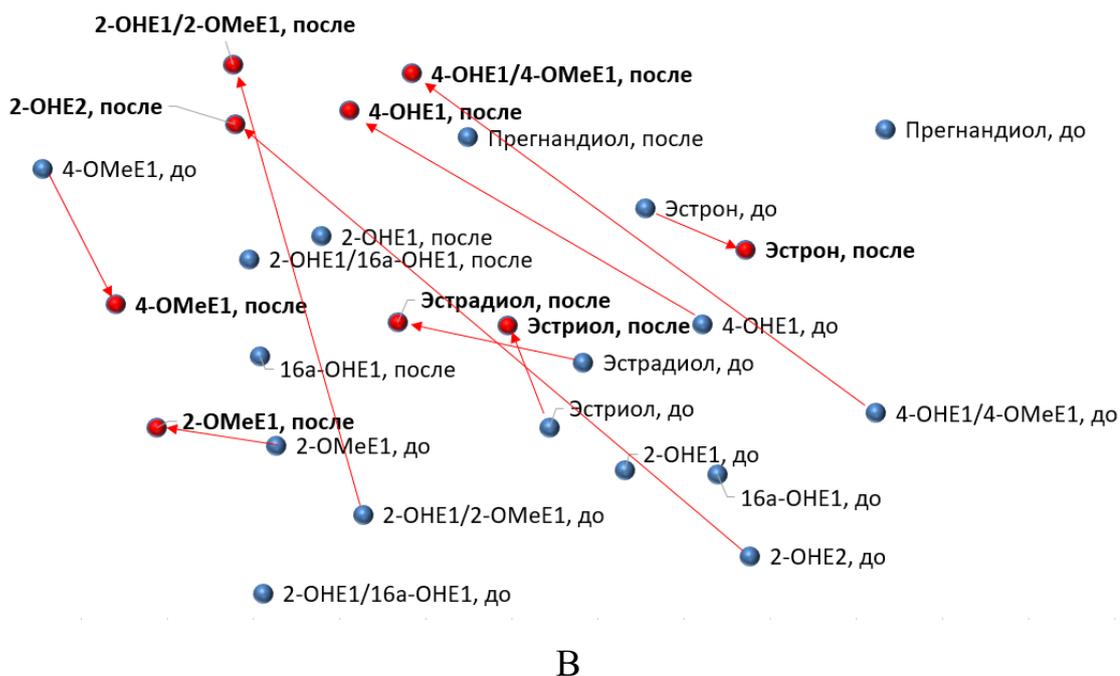
В течение месяца пациентки с ФКМ получали 7-ОН-МР по 60 мг per os один раз в сутки. В результате приёма 7-ОН-МР были отмечены комплексные изменения концентраций метаболитов эстрогенов в суточной моче. Для представления динамики этих изменений в целом мы построили метрические карты, точки которых соответствуют определенным метаболитам (рис. 22).



А



Б



В

Рисунок 22 – Комплексные изменения концентраций метаболитов эстрогенов у пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией в динамике лечения 7-гидроксиматаирезинолом (60 мг/сут, 1 мес.).

Примечание. Выделен кластер, соответствующий корреляциям концентраций метаболитов эстрогенов: А. Метрическая диаграмма, день «0», Б. Метрическая диаграмма, день «30», В. Динамика перемещения точек, соответствующих различным метаболитам эстрогенов. Красными стрелками отмечены статистически значимые изменения показателей метаболизма эстрогенов.

Результат анализа метрических карт показал, что комплексным изменениям уровней эстрогенов соответствовало «центростремительное» движение точек, обозначающих отдельные метаболиты, в область центрального кластера (см. рис. 22). Особенно наглядно это центростремительное движение видно на рисунке 22В. Иначе говоря, до лечения точки были весьма разрозненны, т. е. уровни различных метаболитов эстрогенов достаточно слабо коррелировали друг с другом. Этому соответствует состояние дисрегуляции метаболизма эстрогенов.

После применения 7-ОН-МР точки становились менее разрозненными и собирались в центральный кластер диаграммы (рис. 22Б), т. е. корреляции между

уровнями различных метаболитов эстрогенов усиливались. Соответственно, 7-ОН-МР способствовал повышению координации метаболизма эстрогенов и, как следствие, проявления биологических эффектов эстрогенов.

По результатам приведённого нами хемотранскриптомного анализа (см. главу 4), молекула 7-ОН-МР также способствовала повышению транскрипции генов LATS1 (негативный регулятор сигнального пути Hippo, ограничивающий пролиферацию клеток и стимулирующий реградацию рецептора эстрогенов ESR1 [59]), NR2C2 и SAFB2 (ко-репрессоры рецепторов эстрогенов), BCAR3 (адаптерный белок, снижающий пролиферацию клеток при РМЖ за счёт анти-эстрогенового действия). Описанные изменения транскрипции соответствуют усилению контроля метаболизма эстрогенов и усилению корреляций между уровнями различных метаболитов эстрогенов (на что и указывает «центробежное» движение точек на диаграмме (см. рис. 22).

В результате приема 7-ОН-МР выявлено снижение содержания эстрадиола (исх. – $16,34 \pm 4,1$ мкг/сут, после приема 7-ОН-МР – $2,09 \pm 0,2$ мкг/сут, контроль – $3,09 \pm 0,17$ мкг/сут, $p_{\text{исх.-после л.}} < 0,05$), эстрона (исх. – $22,9 \pm 9,48$ мкг/сут, после приема 7-ОН-МР – $4,29 \pm 0,89$ мкг/сут, контроль – $3,38 \pm 0,53$ мкг/сут, $p_{\text{исх.-после}} < 0,05$) и эстриола (исх. – $15,38 \pm 2,48$ мкг/сут, после приема 7-ОН-МР – $4,93 \pm 0,76$ мкг/сут, контроль – $6,66 \pm 1,02$ мкг/сут, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$) в группе пациенток с ФКМ (рис. 23).

7-ОН-МР способствовал снижению концентрации 16а-ОНЕ1 в суточной моче пациенток ФКМ с $2,82 \pm 0,24$ до $2,59 \pm 0,46$ мкг/сут после лечения. Также отмечен тренд к повышению значений соотношения метаболитов 2-ОНЕ1/16а-ОНЕ1 в группе пациенток с ФКМ (исх. – $1,58 \pm 0,08$ мкг/сут; после лечения – $3,69 \pm 0,47$ мкг/сут).

ФКМ является важным звеном в формировании опухолевой пролиферации. Для снижения риска возникновения РМЖ важно проводить адекватную терапию диффузной ФКМ с использованием прогестероновых гелей и растительными негормональными препаратами на основе экстрактов тигровой лилии (*Lilium tigrinum*), витекса (*Agnus Castus*), цикламены (*Cyclamen purpurascens*), индол-3-

карбинола, эпигаллокатехин-3-галлата и др. Однако результаты лечения не всегда являются удовлетворительными и с точки зрения врача, и с точки зрения пациентки. 7-ОН-МР, оказывая влияние на профиль эстрогеновых метаболитов, липидный профиль, способствует уменьшению клинических проявлений КС, опухолевых рисков, связанных с гиперэстрогенией при ФКМ. Поэтому проведение дальнейших клинических исследований эффектов 7-ОН-МР при мастопатии сохраняет свою актуальность.

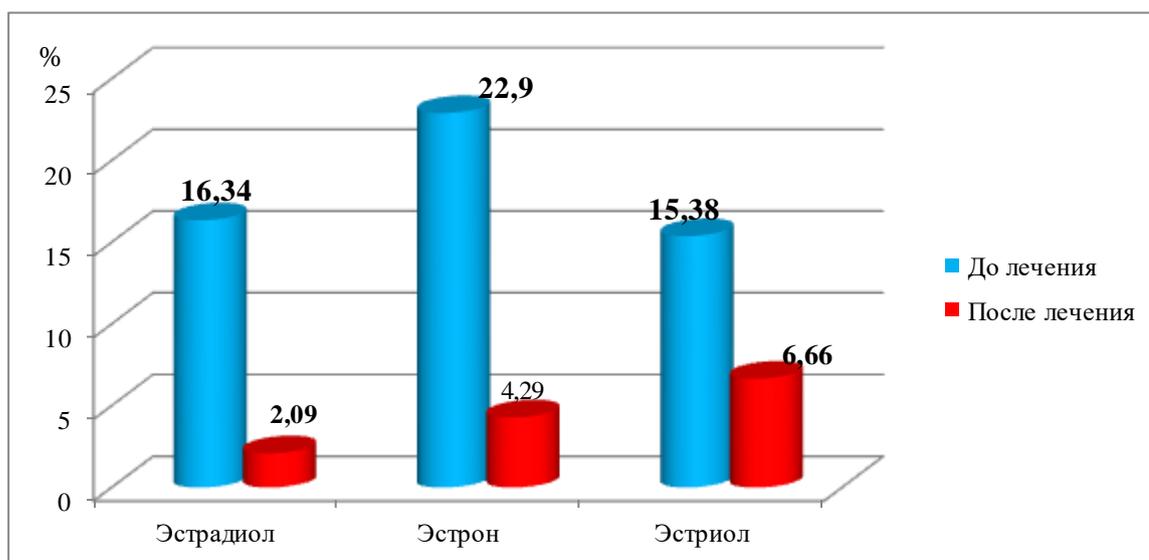


Рисунок 23 – Динамические изменения показателей уровня эстрогенов у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией до и после приема 7-гидроксиматаирезинола

6.3. Оценка липидного профиля у обследованных женщин

В нашем исследовании проведена оценка липидного профиля у женщин постменопаузального периода с ФКМ. Нарушение липидного обмена (дислипидемии) является одним из ведущих факторов развития метаболического синдрома (МС).

В настоящее время доказано, что до 45–50 лет женщины имеют значительно меньший риск развития атеросклероза. Защитные свойства эстрогенов поддерживают концентрацию липидов в пределах оптимальных

значений. Однако с приходом менопаузы и появлением дефицита эстрогенов возрастают факторы развития МС.

При применении 7-ОН-МР снижался индекс атерогенности (исх. – $4,21 \pm 0,46$; после лечения – $2,34 \pm 0,42$; контроль – $3,03 \pm 1,13$, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$), отмечено снижение уровня общего холестерина (исх. – $6,71 \pm 0,57$ ммоль/л; после лечения – $5,02 \pm 0,64$ ммоль/л; контроль – $6,03 \pm 0,9$ ммоль/л, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$) (рис. 24, 25).

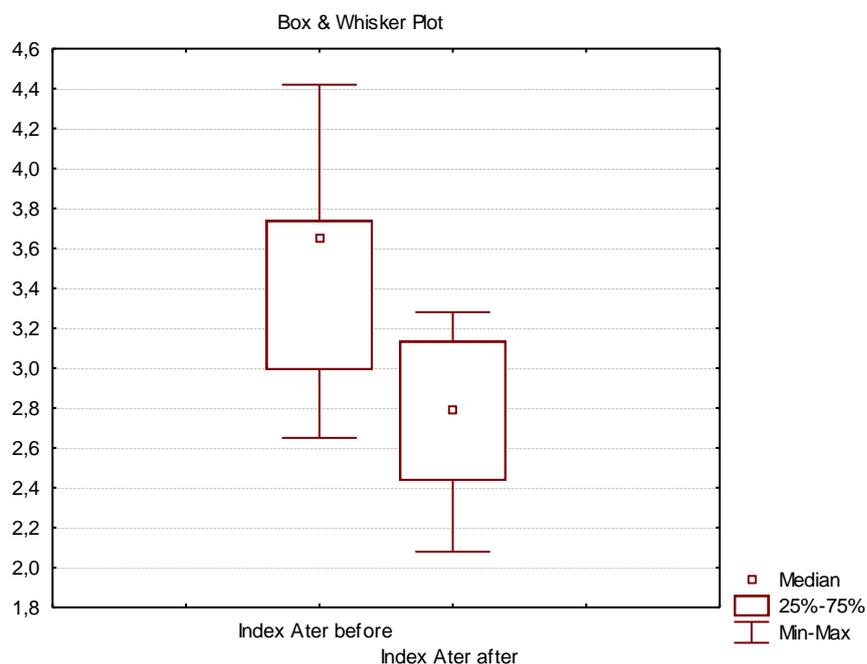


Рисунок 24 – Показатели динамического изменения индекса атерогенности до и после лечения 7-гидроксиматаирезином

На фоне лечения также отмечена положительная тенденция в виде повышения фракции ЛПВП (исх. – $1,24 \pm 0,14$ ммоль/л; после лечения – $1,68 \pm 0,11$ ммоль/л; контроль – $1,56 \pm 0,33$ ммоль/л, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$), при этом уровень ЛПНП снижался (исх. – $4,86 \pm 0,68$ ммоль/л; после лечения – $3,35 \pm 0,53$ ммоль/л; контроль – $3,71 \pm 0,89$ ммоль/л, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$) (рис. 25, 26).



Рисунок 25 – Показатели динамического изменения уровня общего холестерина до и после лечения 7-гидроксиматаирезинолом

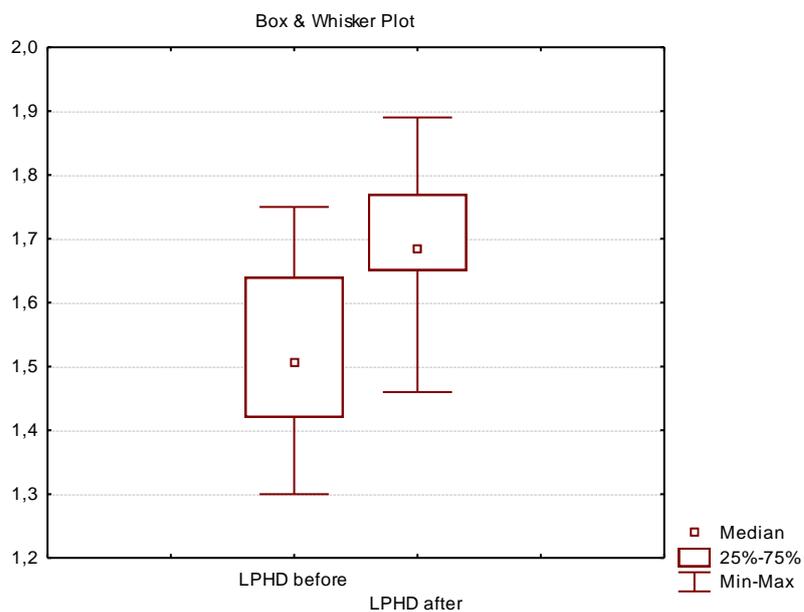


Рисунок 26 – Показатели динамического изменения уровня липопротеидов высокой плотности до и после лечения 7-гидроксиматаирезинолом

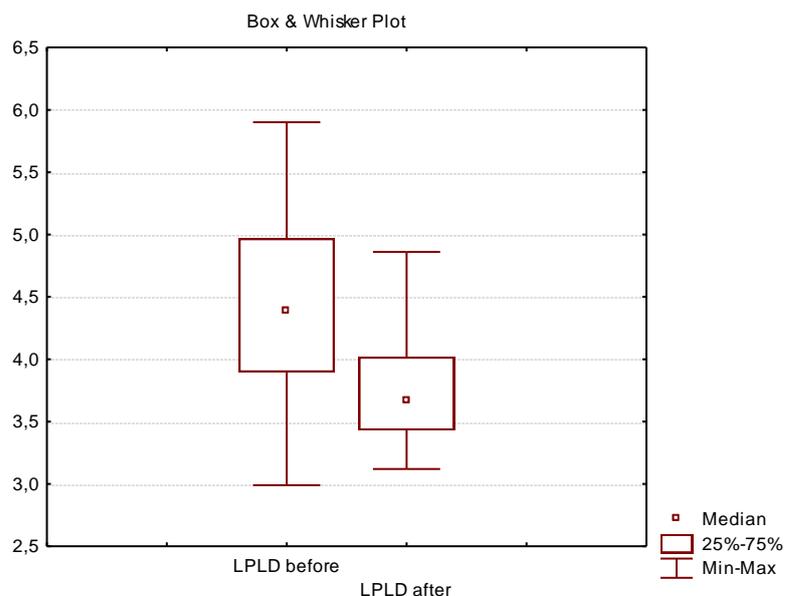


Рисунок 27 – Показатели динамического изменения уровня липопротеидов низкой плотности до и после лечения 7-гидроксиматаирезином

Уровень триглицеридов после терапии находился в пределах референсных значений (исх. – $1,74 \pm 0,44$ ммоль/л; после лечения – $1,15 \pm 0,27$ ммоль/л; контроль – $1,59 \pm 1,06$ ммоль/л) (рис. 28).

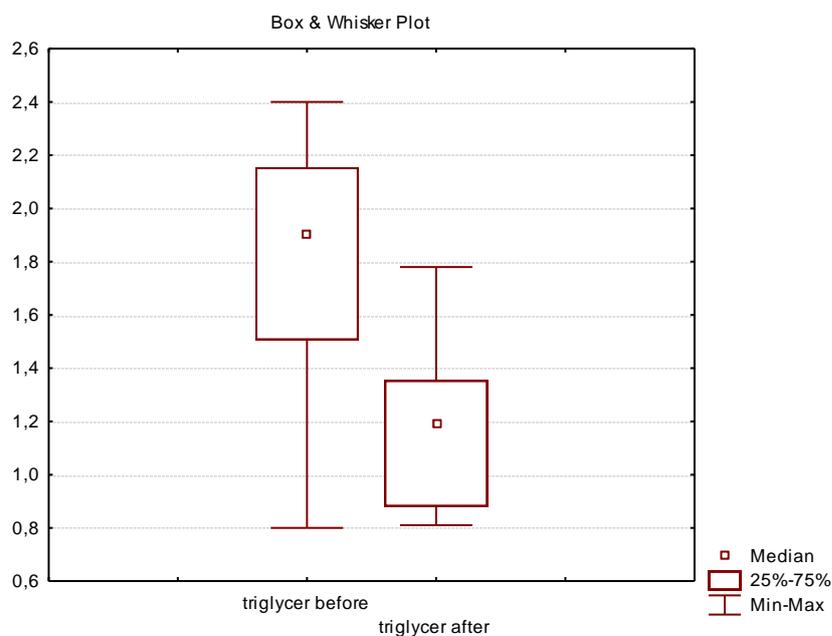


Рисунок 28 – Показатели динамического изменения уровня триглицеридов до и после лечения 7-гидроксиматаирезином

6.4. Резюме к главе 6

Таким образом, метрическая диаграмма данных по исследованию показала, что корреляции между уровнями различных эстрогенов образуют единственный кластер. В центре кластера расположены точки, соответствующие уровням основных метаболитов эстрогенов (эстрадиола и эстриола). Точки, лежащие вне кластера (уровни прегнандиола, 25(OH)D, глутатиона, нитраты и др.) гораздо слабее взаимодействуют с уровнями метаболитов эстрогенов, чем уровни метаболитов эстрогенов друг с другом.

В результате применения 7-ОН-МР точки становились менее разрозненными и собирались в центральный кластер диаграммы (рис. 22Б), т. е. корреляции между уровнями различных метаболитов эстрогенов усиливались. Соответственно, 7-ОН-МР способствовал повышению координации метаболизма эстрогенов и, как следствие, проявлению биологических эффектов эстрогенов.

В результате приема 7-ОН-МР выявлено снижение содержания эстрадиола (исх. – $16,34 \pm 4,1$ мкг/сут, после приема 7-ОН-МР – $2,09 \pm 0,2$ мкг/сут, контроль – $3,09 \pm 0,17$ мкг/сут, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$), эстрона (исх. – $22,9 \pm 9,48$ мкг/сут, после приема 7-ОН-МР – $4,29 \pm 0,89$ мкг/сут, контроль – $3,38 \pm 0,53$ мкг/сут, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$) и эстриола (исх. – $15,38 \pm 2,48$ мкг/сут, после лечения – $4,93 \pm 0,76$ мкг/сут, контроль – $6,66 \pm 1,02$ мкг/сут, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$, $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$) в группе пациенток с ФКМ.

7-ОН-МР способствовал снижению концентрации 16а-ОНЕ1 в суточной моче женщин с ФКМ с $2,82 \pm 0,24$ до $2,59 \pm 0,46$ мкг/сут после лечения. Также отмечен тренд к повышению значений соотношения метаболитов 2-ОНЕ1/16а-ОНЕ1 в группе пациенток с ФКМ (исх. – $1,58 \pm 0,08$ мкг/сут, после лечения – $3,69 \pm 0,47$ мкг/сут), что, очевидно, значительно снижает риск развития ФКМ и РМЖ.

При применении 7-ОН-МР снижался индекс атерогенности (исх. – $4,21 \pm 0,46$ усл. ед., после лечения – $2,34 \pm 0,42$ усл. ед., контроль – $3,03 \pm 1,13$ усл. ед.; $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$), отметилось снижение уровня общего

холестерина (исх. – $6,71 \pm 0,57$ ммоль/л; после лечения – $5,02 \pm 0,64$ ммоль/л; контроль – $6,03 \pm 0,9$ ммоль/л, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$).

Также на фоне лечения отметилась положительная тенденция в виде повышения фракции ЛПВП (исх. – $1,24 \pm 0,14$ ммоль/л; после лечения – $1,86 \pm 0,11$ ммоль/л; контроль – $1,56 \pm 0,33$ ммоль/л, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$, $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$), при этом уровень ЛПНП снижался (исх. – $4,86 \pm 0,68$ ммоль/л; после лечения – $3,35 \pm 0,53$ ммоль/л; контроль – $3,71 \pm 0,89$ ммоль/л, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$). Показатели триглицеридов после терапии находились в пределах референсных значений (исх. – $1,74 \pm 0,44$ ммоль/л, после лечения – $1,15 \pm 0,27$ ммоль/л; контроль – $1,59 \pm 1,06$ ммоль/л).

Своевременная диагностика позволяет выявить нарушения липидного обмена как одну из важных причин развития атеросклероза, а правильное и своевременное лечение способно замедлить этот процесс и уменьшить риск формирования сердечно-сосудистых осложнений [31, 47, 133].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Заболеваемость доброкачественными и злокачественными поражениями МолЖ растет с каждым годом, поэтому эта проблема актуальна во всем мире. Доброкачественные заболевания МолЖ диагностируются у 60 % женщин после 40 лет [5, 26, 41, 42]

Одним из факторов риска развития РМЖ является мастопатия. Лечение доброкачественных заболеваний МолЖ необходимо и возможно в любом возрасте. Благодаря терапии улучшается качество жизни, происходит реабилитация репродуктивной функции женщин, а осуществляется ранняя профилактика онкологических заболеваний МолЖ [40, 80]. Поскольку используемый в настоящее время арсенал средств для лечения мастопатии весьма ограничен, представлен препаратами микронизированного прогестерона и фитопроизводными (индолкарбинол, экстракт витекса священного), поиск новых эффективных и безопасных молекул-кандидатов на основе растительных источников для профилактики и лечения мастопатии весьма актуален. [24, 29, 36, 37, 39, 52, 55, 61, 69, 70, 99, 164, 174, 187, 192].

Целью исследования в нашей работе было изучить клинико-фармакологические эффекты 7-гидроксиматаирезинола в эксперименте с солидной карциномой Эрлиха, а также возможности влияния этого лигнана на фиброзно-кистозную мастопатию у женщин в постменопаузальном периоде. Реализация этой цели была сопряжена с решением следующих задач:

1. Методом хемореактомного и хемотранскриптомного анализа определить действие 7-ОН-МР на экспрессию генов, влияющих на опухолевый рост в ОК линии MCF-7 (опухоль МолЖ).

2. Провести анализ эффектов фармацевтической субстанции 7-гидроксиматаирезинола в дозах 60 и 120 мг/кг/сут на скорость роста солидной КЭ и эффективность применения 7-гидроксиматаирезинола в дозе 120 мг/кг/сут совместно с эстрадиолом валератом в дозе 0,51 мг/кг/сут у мышей.

3. Оценить состояние репродуктивного и соматического здоровья, а также менопаузальный индекс Куппермана и УЗИ МолЖ у исследуемых женщин с ФКМ в динамике применения 7-гидроксиматаирезинола.

4. Оценить полный спектр метаболитов эстрогенов и их соотношение в суточной моче, а также липидный спектр в динамике применения 7-гидроксиматаирезинола в плазме крови у пациенток с ФКМ в постменопаузальном периоде.

5. Оценить эффективность 7-гидроксиматаирезинола (фармацевтическая субстанция класс лигнанов) в эксперименте с солидной КЭ и в лечении ФКМ у пациенток постменопаузального периода и его влияние на уровень метаболитов эстрогенов в динамике терапии в течение трех месяцев.

Для достижения поставленных задач нами было проведено: изучение результатов хемореактомного и дозозависимого хемотранскриптомного анализа действия 7-ОН-МР на экспрессию генов клеток линии MCF-7 опухоли МолЖ, клиничко-фармакологическое исследование противоопухолевых эффектов 7-ОН-МР на модели перевиваемой КЭ у подопытных мышей, анализ фармакокинетических характеристик 7-ОН-МР у женщин постменопаузального периода, оценка влияния 7-ОН-МР на состояние МолЖ и клинические проявления КС, обоснование выбора дозы приема БАД «Лигнариус» для пациенток с ФКМ.

В ходе изучения научной литературы нами не были обнаружены научные источники, публикующие хем результаты транскриптомных исследований влияния 7-ОН-МР на ОК РМЖ. Как правило, для подавляющего большинства имеющихся на рынке лекарств данные о действии на транскриптом, а следовательно, и о долговременных последствиях приёма препаратов отсутствуют. Особенно важно изучение продолжительных транскриптомных эффектов противоопухолевых лекарственных средств [178, 181]. Транскриптомные исследования дают возможность выявить скрытые механизмы действия препаратов и более детально обозначить спектр патологий, при

которых данная исследуемая молекула может быть использована и оказать благоприятное воздействие.

Результаты проведенного нами хемотранскриптомного анализа молекулы 7-ОН-МР (оценка воздействия на экспрессию генов в опухолевых клетках линии MCF-7) указали на несколько важных особенностей ее транскриптомного действия. В частности, 7-ОН-МР снижал экспрессию генов, вовлеченных в поддержание пролиферации клеток (401 ген, в т. ч. гены, участвующие в поддержании теломер), синтез белка (194 генов) и протеасомную деградацию белков (70 генов), энергетический метаболизм опухолевых клеток (91 ген) и хроническое воспаление (148 генов). Уменьшение экспрессии этих групп генов тормозит процессы пролиферации и жизнедеятельности, одновременно защищая организм от избыточного воспаления. Параллельно 7-ОН-МР способствовал преимущественному повышению транскрипции групп генов, вовлеченных в противоопухолевое действие (100 генов), в т. ч. генов, участвующих в поддержании противоопухолевого иммунитета, а также генов, опосредующих противоопухолевые эффекты витамина D, ретиноидов и витамина С. Описанные изменения в транскрипции генов усиливают эффекты воздействия 7-ОН-МР на белки протеома и указывают на перспективы использования 7-ОН-МР у пациенток с опухолевыми заболеваниями.

Кроме того, при изучении противоопухолевых эффектов 7-ОН-МР было установлено статистически значимое увеличение стандартного отклонения массы тела подопытных мышей с перевиваемой КЭ. Приём 7-ОН-МР был ассоциирован с дифференцированным откликом животных на приём препаратов: у одних животных рост массы тела замедлялся, у других – ускорялся. Наиболее выраженный эффект при линейном измерении опухолевого узла отмечался при использовании 120 мг/сут 7-ОН-МР: на 21-е сутки средний объём статистически значимо снижался на 620 мм^3 , что было статистически значимо ниже, чем в группе контроля. Приём 120 мг/сут 7-ОН-МР статистически значимо тормозил интенсивность роста опухолевых узлов на фоне приёма эстрадиола валерата. Анализ выживаемости показал существенное повышение продолжительности

жизни. Следовательно, 7-ОН-МР в дозах 60 и 120 мг/кг/сут оказывает статистически значимо противоопухолевое воздействие на рост солидной КЭ, но более эффективной по силе и времени воздействия являлась доза 120 мг/кг/сут.

Основной из задач клинической части было сравнительное исследование женщин постменопаузального периода с ФКМ (исследуемая группа, n = 40) и без патологии МолЖ (контрольная группа, n = 20). Клинические группы имели сходные возрастные показатели.

Для женщин с ФКМ, так же как и для контрольной группы, характерно своевременное наступление менархе, не сопровождающееся аномальными маточными кровотечениями. Начало половой жизни после 18 лет имело место у женщин обеих групп. Нарушения оргазма и либидо наиболее выражены были у пациенток с ФКМ и встречались в 50 % случаев. При анализе средств контрацепции в основной группе предпочтение отдавалось ВМК (25 %), в группе сравнения – механическим средствам (35 %). Не предохранялись от беременности 27,5 % женщин исследуемой группы и 20 % – контрольной. Нерожавшие и первородящие женщины были только в контрольной группе. По количеству родов женщины обеих групп статистически значимо не различались. Следует отметить, что частота медицинских абортс у женщин с ФКМ была выше в 2 раза по сравнению с группой контроля, что является фактором риска развития патологии МолЖ.

На основании проведенного анализа детородной функции характерными для пациенток с ФКМ являлся ряд особенностей: частое выполнение медицинских абортс (на одни роды приходилось в среднем два медицинских абортс) и короткий период лактации (от одного до трех месяцев, 7,4 %). Важно отметить, что послеродовой мастит статистически значимо чаще встречался у женщин исследуемой группы (65 %) по сравнению с контролем (20 %).

В гинекологическом анамнезе женщин обеих групп имела место следующая патология: лейомиома матки (исследуемая группа – 45 %, контрольная – 35 %), сочетание лейомиомы матки с ГПЭ (32,5 и 2 % соответственно), ГПЭ (62,5 и 20 %), внутренний эндометриоз (22,5 и 20 %),

воспалительные заболевания матки и придатков (30 и 20 %), доброкачественные опухоли яичников (5 и 5 %), ИППП (30 и 25 %).

Таким образом, сочетание лейомиомы матки с ГПЭ, гиперпластические процессы эндометрия, а также воспалительные заболевания гениталий и ИППП являются значимыми факторами риска развития патологии МолЖ.

При сравнении соматической заболеваемости женщин в обеих группах было выявлено, что чаще встречались болезни системы кровообращения (исследуемая группа – 45 %, контрольная – 25 %). С почти одинаковой частотой в сравниваемых группах встречались болезни органов пищеварения (исследуемая группа – 20 %, контрольная – 25 %), мочеполовой системы (12,5 и 10 % соответственно), болезни костно-мышечной и соединительной ткани (7,5 и 10 %), а также эндокринной системы (10 и 10 %).

Частыми проявлениями КС у женщин исследуемой и контрольной групп были приливы – 85 и 35 % соответственно ($p < 0,05$), легкой степени тяжести – 65 и 25 % ($p < 0,05$) и средней – 17,5 и 10 % ($p < 0,05$), тяжелая форма приливов встречалась в 2,5 % случаев только в исследуемой группе.

При оценке симптомокомплексов менопаузального индекса Куппермана преобладали слабо выраженные симптомы у пациенток исследуемой и контрольной групп (47,5 и 12,5 % соответственно; $p < 0,05$) и умеренно выраженные симптомы (37,5 и 5 %; $p < 0,05$), тяжелые симптомы течения были отмечены в 7,5 % случаев только у пациенток с ФКМ. После терапии 7-ОН-МР у пациенток исследуемой группы остались проявления КС лишь в 20% случаев в слабо выраженной форме. Следует отметить, что имеющиеся слабовыраженные климактерические симптомы (до лечения) остались после терапии только у одной пациентки (2,5 %).

После лечения БАД «Лигнариус» в исследуемой группе в 30 % случаев умеренно выраженные проявления КС исчезли полностью, в 7,5 % – отметились улучшение со снижением интенсивности симптомокомплексов до слабо выраженных. У 7,5 % женщин с тяжелым течением КС имела место

положительная динамика во всех случаях с уменьшением интенсивности проявлений до слабо выраженных.

По результатам оценки сексуального статуса отсутствие либидо отметили 30 % пациенток исследуемой группы и 20 % – контрольной. Нарушения оргазма в виде его снижения или отсутствия статистически значимо чаще имели место у женщин исследуемой группы в сравнении с контрольной: - у 47,5 и у 30 % соответственно ($p < 0,05$). Снижение возбуждения чаще также имело место у женщин исследуемой группы – 85 %, у 52,5 % ($p < 0,05$) – в контроле. Удовлетворенность сексуальной жизнью преобладала у женщин контрольной группы по сравнению с исследуемой – 40 и 22,5 % соответственно ($p < 0,05$).

После терапии 7-ОН-МР отмечалось повышение удовлетворенностью сексуальной жизнью в исследуемой группе с 22,5 до 40 %, также уменьшились жалобы на нарушение либидо с 30 до 17,5 %, нарушение оргазма с 47,5 до 30 % и снижения возбуждения с 85 до 52,5 %.

У 80 % женщин с ФКМ имели место масталгии, причем у 37,5 % – слабой степени; умеренный болевой синдром отмечался у 43,75 %; выраженная масталгия наблюдалась у 18,75 %. Следует отметить, что у женщин контрольной группы масталгия встречалась лишь в 35 % случаев в слабовыраженной форме.

После курса терапии 7-ОН-МР отмечена положительная динамика в виде уменьшения проявления масталгии у пациенток исследуемой группы. Через три месяца после лечения выраженная болезненность в МолЖ сохранилась лишь у одной (3,85 %) пациентки исследуемой группы, умеренно выраженная болезненность отмечалась в 6 (23,07 %) случаях. После шести месяцев наблюдения у пациенток исследуемой группы наблюдалось полное исчезновение умеренной и выраженной масталгии, у 11 (34,37 %) женщин эти проявления перешли в слабо выраженную форму.

Также положительная динамика по результатам осмотра и УЗИ МолЖ через три и шесть месяцев после начала лечения отмечена у 37,5 и 67,5 % пациенток исследуемой и контрольной групп соответственно. Через три месяца после приема 7-ОН-МР полностью исчезли кистозные образования размером до

3 мм в МолЖ у 10 % наблюдаемых, у 27,5 % женщин отмечена тенденция к уменьшению на 2–3 мм кистозных образований размерами до 11,6 мм. Через шесть месяцев кистозные образования полностью рассосались еще у 7,5 % наблюдаемых, а уменьшение кистозных образований в МолЖ еще у 22,5 % женщин.

Как видим, наилучший эффект от лечения был получен через шесть месяцев после приема 7-ОН-МР: у 67,5 % женщин исследуемой группы объективно выявлена положительная динамика (в 17,5 % случаев кистозные изменения исчезли совсем, в 50 % случаев отмечено уменьшение кистозных образований).

В результате приема БАД «Лигнариус» у пациенток с ФКМ отмечено снижение уровня метаболитов эстрогенов до нормальных показателей к третьему месяцу приема. Так, содержание эстрадиола уменьшилось до 2,09 мкг/сут (исх. – $16,34 \pm 4,1$ мкг/сут, $p < 0,05$), эстрона – до 4,29 мкг/сут. (исх. – $22,9 \pm 9,48$ мкг/сут, $p < 0,05$) и эстриола – 4,93 мкг/сут (исх. – $15,38 \pm 2,48$ мкг/сут, $p < 0,05$).

Отмечена тенденция к повышению соотношений метаболитов 2-ОНЕ1 к 16 α -ОНЕ1 (коэффициент 2/16) в группе пациенток с ФКМ (исх. – $1,58 \pm 0,08$ мкг/сут, после лечения – $3,69 \pm 0,47$ мкг/сут), что свидетельствует о снижении канцерогенных рисков.

2-ОНЕ1 к 16 α -ОНЕ1 – коэффициент 2/16. Коэффициент 2/16 меньше 2,0 связывают с повышенным риском развития синдрома поликистозных яичников, ФКМ, эндометриоза, CIN и с-г шейки матки, колоректального рака, а также онкопатологии предстательной железы. Коэффициент 2/16 больше 2,0 связывают со снижением риска развития вышеперечисленных патологий.

При применении БАД «Лигнариус» снижался индекс атерогенности (исх. – $4,21 \pm 0,46$, после лечения – $2,34 \pm 0,42$; $p < 0,05$; контроль – $3,03 \pm 1,13$). Также имело место снижение уровня общего холестерина (исх. – $6,71 \pm 0,57$ ммоль/л; после лечения – $5,02 \pm 0,64$ ммоль/л; контроль – $6,03 \pm 0,9$ ммоль/л). Также на фоне лечения отмечена положительная тенденция в

виде повышения фракции ЛПВП (исх. – $1,24 \pm 0,14$ ммоль/л; после лечения – $1,86 \pm 0,11$ ммоль/л; контроль – $1,56 \pm 0,33$ ммоль/л, $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$), при этом уровень ЛПНП снижался (исх. – $4,86 \pm 0,68$ ммоль/л; после лечения – $3,35 \pm 0,53$ ммоль/л; контроль – $3,71 \pm 0,89$ ммоль/л; $p_{\text{исх.-после леч.}} < 0,05$; $p_{\text{исх.-контроль}} < 0,05$). Показатели триглицеридов после терапии находились в пределах референсных значений (исх. – $1,74 \pm 0,44$ ммоль/л; после лечения – $1,15 \pm 0,27$ ммоль/л; контроль – $1,59 \pm 1,06$ ммоль/л).

При большом количестве исследований, посвященных использованию 7-ОН-МР для лечения и профилактики различных заболеваний, до сих пор нет четких рекомендаций по приему 7-ОН-МР при ФКМ.

Таким образом, в данной работе показано, что выбор дозы 7-ОН-МР у пациенток с ФКМ может основываться на анализе динамики изменений уровня метаболитов эстрогенов, липидного профиля и клинических показателей, изменявшихся при приеме 7-ОН-МР в дозе 60 мг/сут в течение одного месяца с оценкой результатов через три и шесть месяцев после окончания лечения.

Нарушения уровня метаболитов эстрогенов и липидного обмена позволит своевременно диагностировать не только развитие атеросклероза, но и выявлять ФКМ. Своевременная диагностика позволяет обнаружить нарушения липидного обмена как одну из важных причин развития атеросклероза. Эстрогены благодаря биологическим механизмам регуляции положительно влияют на функцию эндотелия, снижая уровни молекул адгезии как сосудистых, так и воспалительных клеток [70, 92].

Вследствие развития гипоэстрогении во время и после наступления менопаузы может возникнуть дислипотеидемия [5, 19, 44, 148].

ВЫВОДЫ

1. Результаты хемоинформационного анализа указывают на реалистичные механизмы онкопротекторного действия 7-гидроксиматаирезинола, в частности на комплекс фармакологических свойств 7-гидроксиматаирезинола, которыми данная молекула противодействует проопухолевым свойствам эстрогенов.
2. При приеме 7-гидроксиматаирезинола было установлено статистически значимое увеличение стандартного отклонения массы тела мышей. Использование 7-гидроксиматаирезинола было ассоциировано с дифференцированным откликом животных на прием препаратов: у одних животных рост массы тела замедлялся, у других – ускорялся. Наиболее выраженный эффект при линейном измерении опухолевого узла отмечался при использовании 7-гидроксиматаирезинола в дозе 120 мг/кг/сут: на 21-е сутки средний объем снижался на 620 мм³, что было статистически значимо ниже, чем в группе контроля. Прием 7-гидроксиматаирезинола в дозе 120 мг/кг/сут статистически значимо тормозил интенсивность роста опухолевых узлов на фоне использования эстрадиола валерата. Анализ выживаемости показал существенное повышение продолжительности жизни. Таким образом, 7-гидроксиматаирезинол в дозах 60 и 120 мг/кг/сут оказывает статистически значимое противоопухолевое воздействие на рост солидной карциномы Эрлиха.
3. Менструальный цикл и репродуктивная функция статистически значимо не отличались в обеих группах. Терапия 7-гидроксиматаирезинолом дает выраженный положительный эффект при климактерическом синдроме, снижает выраженность клинических проявлений в виде масталгии, отмечается положительная динамика по результатам применения дополнительных методов диагностики в молочных железах.
4. При приеме 7-гидроксиматаирезинола у женщин с фиброзно-кистозной мастопатией снижался индекс атерогенности, уровень общего холестерина в

крови. Отмечена положительная тенденция в виде повышения фракции липопротеидов высокой плотности, при этом уровень в крови липопротеидов низкой плотности снижался.

5. В результате приема 7-гидроксиматаирезинола выявлено снижение содержания эстрадиола, эстрогена и эстриола в суточной моче в группе пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией. 7-гидроксиматаирезинол способствовал снижению концентрации 16a-OHE1 в суточной моче пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией после лечения. Также отмечен тренд к повышению соотношения метаболитов 2-OHE1/16a-OHE1 в суточной моче у пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией, что, очевидно, значительно снижает риск развития фиброзно-кистозной мастопатии и рака молочной железы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные результаты позволили научно обосновать необходимость изучения метаболитов эстрогенов у пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией в постменопаузальном периоде. На фоне приема БАД «Лигнариус» отмечено повышение соотношений метаболитов 2-ОНЕ1 к 16а-ОНЕ1 (коэффициент 2/16) в группе пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией (исх. – $1,58 \pm 0,08$ мкг/сут; после лечения – $3,69 \pm 0,47$ мкг/сут; $p < 0,05$). Коэффициент 2/16 меньше 2,0 связывают с повышенным риском развития синдрома поликистозных яичников, фиброзно-кистозной мастопатии, эндометриоза (аденомиоза), дисплазии и рака шейки матки. Коэффициент 2/16 больше 2,0 связывают со снижением риска развития вышеперечисленных патологий. Таким образом, 7-гидроксиматаирезинол является оптимальным высокоэффективным и малотоксичным противоопухолевым, гиполипидемическим средством в эффективных и безопасных дозах и рекомендуется в дальнейшем к применению у пациенток с фиброзно-кистозной мастопатией.

Рекомендуется продолжить изучение лигнанов для поиска новых противоопухолевых молекул с целью лечения и профилактики фиброзно-кистозной мастопатии и злокачественных опухолей молочной железы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

7-ОН-МР	7-гидроксиматаирезинол
ВЗОМТ	воспалительные заболевания органов малого таза
ГПЭ	гиперплазия эндометрия
ДДМЖ	доброкачественная дисплазия молочной железы
КЭ	перевиваемая мышинная карцинома Эрлиха
КС	климактерический синдром
КТР	комбинаторная теория разрешимости
ЛПВП	липопротеиды высокой плотности
ЛПНП	липопротеиды низкой плотности
ЛПОНП	липопротеиды очень низкой плотности
МолЖ	молочная железа
РМЖ	рак молочной железы
СМ	суточная моча
ФКМ	фиброзно-кистозная мастопатия
EGFR	повышенная активность рецептора эпидермального фактора роста
GEO	Gene Expression Omnibus
GO	международная номенклатура Gene Ontology
MIC	минимальная ингибирующая концентрация
2-ОНЕ1	2-гидроксиэстрон
2-ОНЕ2	2-гидроксиэстрадиол
16 α -ОНЕ1	16 α -гидроксиэстрон
4-ОНЕ1-4	гидроксиэстрон
2-ОМеЕ1	2-метоксиэстрон
4-ОМеЕ1	4-метоксиэстрон

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адьювантная терапия лигнаном 7-гидроксиматаирезинолом как метод повышения онкологической безопасности приема эстрогенов / О. А. Громова, А. Н. Рубашкина, М. В. Филимонова [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2018. – № 13. – С. 14–19.
2. Беспалов, В. Г. Лечение мастопатии и первичная профилактика рака молочной железы / В. Г. Беспалов, Н. Н. Петрова // Лечащий врач. – 2007. – № 5. – С. 88–89.
3. Беспалов, В. Г. Патогенетическое лечение мастопатии и профилактика рака молочной железы / В. Г. Беспалов // Русский медицинский журнал. Мать и дитя. – 2018. – № 1(2). – С. 141–147.
4. Беспалов, В. Г. Фиброзно-кистозная болезнь и риск рака молочной железы (обзор литературы) / В. Г. Беспалов, М. Л. Травина // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2015. – № 4. – С. 58–70.
5. Биологическое и клиническое значение 7-гидроксиматаирезинола: от теории к практике / А. Н. Рубашкина, О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Н. В. Керимкулова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2024. – Т. 23, № 1. – С. 1–5.
6. Влияние дефицита эстрогенов на липидный профиль у женщин в разные возрастные периоды / И. В. Нейфельд, И. Е. Рогожина, В. Ф. Киричук [и др.] // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2014. – Т. 10, № 3. – С. 396–400.
7. Возможности терапии сочетания миомы матки и доброкачественных дисплазий молочных желез / В. Е. Радзинский, И. М. Ордянец, М. Н. Масленникова [и др.] // Reproductive Endocrinology. – 2017. – № 36. – С. 86–89.
8. Высоцкая, И. В. Атипичные гиперплазии молочной железы / И. В. Высоцкая, В. П. Летягин // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2015. – № 4. – С. 10–17.

9. Высоцкая, И. В. Современные возможности терапии фиброзно-кистозной болезни / И. В. Высоцкая // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2009. – № 1–2. – С. 44–46.
10. Гормональная контрацепция. Хертфорд. Международная организация планирования семьи, 1990.
11. Горяйнова, Л. К. Мастопатия. Особенности патогенеза клиники и лечения на современном этапе / Л. К. Горяйнова // Поликлиника. – 2011. – № 3. – С. 106–111.
12. Громова, О. А. Витамин D. Смена парадигмы / О. А. Громова, И. Ю. Торшин; под ред. Е. И. Гусева, И. Н. Захаровой. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 568 с. ISBN 978-5-9704-4058-2.
13. Громова, О. А. Геронтоинформационный анализ свойств молекулы мексидола / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Л. Э. Федотова // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2017. – Т. 9, № 4. – С. 46–54.
14. Громова, О. А. Магний и «болезни цивилизации» / О. А. Громова, И. Ю. Торшин. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 800 с. ISBN 978-5-9704-4527-3.
15. Дизрегуляторная патология / И. Г. Акмаев, В. В. Александрин, П. Н. Александров [и др.]; под редакцией Г. Н. Крыжановского. – Москва : Медицина, 2002. – 632 с. ISBN: 5-225-04747-5.
16. Доброкачественная дисплазия молочной железы : клинические рекомендации. Кодирование по Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем : МКБ 10:N60.0, N60.1, N60.2, N60.3, N60.4, N60.8, N60.9, N63, N64.4 / Л. В. Адамян, Е. Н. Андреева, Н. Артымук [и др.]. – Москва, 2020. – 77 с.
17. Доброкачественные заболевания молочной железы / под редакцией А. Д. Каприна, Н. И. Рожковой. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 267 с.
18. Доброкачественные заболевания молочных желёз : клинические лекции по материалам школы «Современные аспекты патогенеза, диагностики и

- лечения заболеваний молочных желёз» / Е. Н. Андреева, Е. В. Леднева, Т. В. Овсянникова [и др.]. – Москва : Адаманть, 2006. – 83 с.
19. Ельчанинов, Д. В. Атерогенные нарушения у женщин с климактерическим синдромом в ранний период постменопаузы и их динамика на фоне лечения фитогормонами / Д. В. Ельчанинов // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 6. – С. 59.
 20. Журавлёв, Ю. И. Алгебраические критерии локальной разрешимости и регулярности как инструмент исследования морфологии аминокислотных последовательностей / Ю. И. Журавлёв, К. В. Рудаков, И. Ю. Торшин // Труды МФТИ. – 2011 – Т. 3, № 4. – С. 67–76.
 21. Заболевания молочных желез в гинекологии / Н. М. Подзолкова, И. Е. Фадеев, Т. Н. Полетова, Л. В. Сумятина. – 2–е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. – 80 с. ISBN: 978-5-9704-5659-0.
 22. Зароченцева, Н. В. Возможности применения клималанина при вазомоторных пароксизмах у женщин в климактерическом периоде / Н. В. Зароченцева, Л. К. Джиджихия // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 92–97.
 23. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность) / под редакцией А. Д. Каприна, В. В. Старинского, Г. В. Петровой. – Москва, 2017. – 249 с. ISBN 978-5-85502-227-8.
 24. Индолкарбинол метод мультитаргетной терапии при циклической мастодинии / В. И. Киселев, В. П. Сметник, Л. В. Сутурина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2013. – № 7. – С. 56–63.
 25. Керчелаева, С. Б. Мастопатия и профилактика рака молочной железы как междисциплинарная проблема / С. Б. Керчелаева, А. А. Сметник, В. Г. Беспалов // Русский медицинский журнал. – 2016. – № 14. – С. 56–63.
 26. Керчелаева, С. Б. Мастопатия и профилактика рака молочной железы как междисциплинарная проблема / С. Б. Керчелаева, А. А. Сметник, В. Г. Беспалов // Русский медицинский журнал. – 2016. – № 15. – С. 1018–1025.

27. Коган, И. Ю. Местное применение микронизированного прогестерона у больных репродуктивного возраста с мастопатией / И. Ю. Коган, Е. В. Мусина // *Акушерство и гинекология*. – 2012. – № 2. – С. 102–106.
28. Коломойцева, Т. Н. Доброкачественные заболевания молочных желез / Т. Н. Коломойцева, О. А. Орлова // *Возможности гормональной контрацепции : методические рекомендации*. – Пермь, 2010. – 44 с.
29. Комплексный подход к лечению доброкачественных заболеваний молочных желез / А. М. Плащинская, Ю. В. Красенков, А. Ф. Михельсон // *Русский медицинский журнал*. – 2018. – Т. 26, № 5–1. – С. 20–22.
30. Кравченко, Е. Н. Состояние молочных желез при гинекологических заболеваниях (литературный обзор) / Е. Н. Кравченко, М. А. Ожерельева // *Мать и дитя в Кузбассе*. – 2014. – № 2. – С. 19–23.
31. Кузнецова, И. В. Риск и возможности профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у женщин в пери-и постменопаузе / И. В. Кузнецова // *Медицинский алфавит*. – 2019. – Т. 2, № 14. – С. 6–14.
32. Лекарственная патогенетическая коррекция доброкачественных заболеваний молочной железы / Н. И. Рожкова, Е. В. Меских, Л. М. Бурдина [и др.] // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2008. – № 2. – С. 48–54.
33. Лигнан 7-гидроксиматаирезинол в контексте постгеномной фармакологии А. Н. Рубашкина, И. Ю. Торшин, О.А. Громова, А. Н. Галустян // *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и Фармакоэпидемиология*. – 2024. –Т. 17, № 2. – С. 49-53.
34. *Маммология : национальное руководство* / под редакцией А. Д. Каприна, Н. И. Рожковой. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 496 с. ISBN: 978-5-9704-3729-2.
35. *Мастопатии* / Е. Н. Андреева, В. К. Боженко, И. И. Бурдина [и др.]; под редакцией А. Д. Каприна, Н. И. Рожковой. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 316 с.

36. Мастопатия (фиброзно-кистозная болезнь) : диагностические подходы / И. Ю. Коган, А. А. Полянин, М. О. Мясникова [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2004. – Т. LIII, № 2. – С. 60–65.
37. Меских, Е. В. Применение прожестожеля при диффузных формах мастопатии / Е. В. Меских, Н. И. Рожкова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2012. – № 1. – С. 57–60.
38. Методические рекомендации по профилактике рака молочной железы. – Москва : Общероссийская общественная организация «Российское общество специалистов по профилактике и лечению опухолей репродуктивной системы», 2018. – 24 с.
39. Метрический анализ данных по взаимосвязям между показателями микронутриентной обеспеченности и состоянием здоровья женщин 18-45 лет / И. Ю. Торшин, О. А. Лиманова, О. А. Громова [и др.] // Медицинский алфавит. – 2018. – Т. 21, № 2. – С. 10–20.
40. Метрический анализ соотношений коморбидности между невынашиванием, эндометриозом, нарушениями менструального цикла и микронутриентной обеспеченностью в скрининге женщин репродуктивного возраста / И. Ю. Торшин, О. А. Громова, А. Н. Рубашкина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 5. – С. 160–173. DOI 10.18565/aig.2019.5.
41. Мустафин, Ч. К. Влияние индинола на молочные железы / Ч. К. Мустафин, О. В. Троханова, М.Б. Охалкин // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. – Т. 13, № 1. – С. 62–69.
42. Мустафин, Ч. К. Лечение мастопатии у женщин репродуктивного возраста с симптомами выраженной масталгии / Ч. К. Мустафин // Лечащий врач. – 2013. – № 3. – С. 97–99.
43. Овсянникова, Т. В. Программа обследования и лечения пациенток с заболеваниями молочных желез в практике акушера-гинеколога / Т. В. Овсянникова // Гинекология. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 37–41.
44. Параметры липидного обмена и процессов липопероксидации у женщин в климактерическом периоде / Н. В. Семенова, И. М. Мадаева,

- М. А. Даренская [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 4. – С. 220–220.
45. Патология вегетативно-сосудистых пароксизмов (приливы) у женщин в период менопаузы и механизм действия β-аланина. Новая клинико-фармакологическая концепция / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, О. А. Лиманова, А. А. Никонов // Здоровье женщины. – 2012. – № 6(72). – С. 50.
46. Патология вегетативно-сосудистых пароксизмов (приливы) у женщин в период менопаузы и механизм действия В-аланина. Новая клинико-фармакологическая концепция / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, О. А. Лиманова, А. А. Никонов // Здоровье женщины. – 2013. – № 2. – С. 28–34.
47. Подзолкова, Н. М. Менопаузальная гормональная терапия в профилактике нарушений липидного обмена / Н. М. Подзолкова, В. И. Подзолков, А. И. Тарзиманова // Consilium Medicum. – 2019. – Т. 21, № 6. – С. 81–85.
48. Попов, Э. Н. Особенности фиброзно-кистозной болезни молочной железы у женщин с гиперпластическими процессами матки / Э. Н. Попов, И. Ю. Коган, Е. Н. Байлюк // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. 61, № 1. – С. 68–72.
49. Прилепская, В. Н. Доброкачественные заболевания молочных желез : принципы терапии в помощь практическому врачу / В. Н. Прилепская, О. Б. Швецова // Гинекология. – 2000. – Т. 2, № 6. – С. 201–204.
50. Родионов, В. В. Доброкачественные заболевания молочных желез / В. В. Родионов, А. А. Сметник // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2018. – № 1(19). – С. 90–100.
51. Рожкова, Н. И. Основные направления патогенетической терапии мастопатии / Н. И. Рожкова, В. П. Сметник, Е. В. Меских // Лечащий врач. – 2011. – № 3. – С. 33.
52. Рожкова, Н. И. Применение Мастодиона при различных формах мастопатии / Н. И. Рожкова, Е. В. Меских // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 3. – С. 27–34.

53. Рожкова, Н. И. Рентгенодиагностика заболеваний молочных желез / Н. И. Рожкова. – Москва : Медицина, 1993. – 222 с.
54. Роль 7-гидроксиматаирезинола в модуляции метаболизма эстрогенов и терапии мастопатии / А. Н. Рубашкина, Н. П. Лапочкина, И. Ю. Торшин, О. А. Громова // Гинекология. – 2020. – Т. 22, № 4. – С. 43–48. DOI. 10.26442/20795696.2020.4.200183.
55. Рубашкина, А. Н. Коррекция метаболизма эстрогенов у женщин с доброкачественной дисплазией молочной железы : новые перспективы в фармакологии / А. Н. Рубашкина, Н. П. Лапочкина, О. А. Громова // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека : материалы VII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием (Иваново, 06 апреля 2021 г.). – Иваново, 2021. – С. 135–137.
56. Рубашкина, А. Н. Лигнаны и другие компоненты фитоэкстрактов для лечения фиброзно-кистозной мастопатии / А. Н. Рубашкина, О. А. Громова, И. Ю. Торшин // Вопросы диетологии. – 2024. – Т. 14, № 1. – С. 47–53.
57. Рубашкина, А. Н. Фармакоинформационные, фундаментальные и клинические исследования 7-гидроксиматаирезинола в контексте поиска эффективных и безопасных терапевтических подходов к мастопатии / А. Н. Рубашкина, И. Ю. Торшин, О. А. Громова // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2024. – № 1, – С.44-54.
58. Руководство по амбулаторно - поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии / под ред. В. Н. Серова, Г. Т. Сухих, В. Н. Прилепской, В. Е. Радзинского. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 1136 с.
59. Свирновский, А. И. Резистентность опухолевых клеток к терапевтическим воздействиям как медико-биологическая проблема / А. И. Свирновский // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2014. – № 5(11). – С. 15–38.

60. Семикопенко, В. А. Современное состояние диагностики заболеваний молочной железы / В. А. Семикопенко // Медицинская визуализация. – 2011. – № 6. – С. 92–102.
61. Сеницын, В. А. Лечение больных с фиброзно-кистозной мастопатией, сопровождающейся болевым синдромом / В. А. Сеницын, Т. В. Руднева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2006. – Т. 6, № 2. – С. 60–62.
62. Синчихин, С. П. Фиброзно-кистозная мастопатия в гинекологической практике / С. П. Синчихин, О. Б. Мамиев // Гинекология. – 2008. – Т. 10, № 2. – С. 59–62.
63. Систематический анализ фундаментальных и клинических исследований лигнана 7-гидроксиматаирезинола / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, А. Н. Рубашкина [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2019. – Т. 15, № 13. – С. 34–41.
64. Сметник, А. А. Опыт применения индол-3-карбинола в лечении заболеваний молочной железы и профилактике рака молочной железы / А. А. Сметник, В. П. Сметник, В. И. Киселев // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 2. – С. 106–112.
65. Сметник, В. П. Приливы : загадка климактерия / В. П. Сметник // Климактерий. – 2009. – № 1. – С. 3–4.
66. Современные возможности лечения масталгии на фоне мастопатии / Л. В. Ткаченко, Н. И. Свиридова, Т. В. Складановская [и др.] // Лекарственный вестник. – 2018. – Т. 12, № 3. – С. 30–32.
67. Сравнительный хемореактомный анализ мексидола / И. Ю. Торшин, О. А. Громова, И. С. Сардарян, Л. Э. Федотова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, № 1–2. – С. 75–83.
68. Староконь, П. М. Хирургическое лечение фиброзно-кистозной мастопатии : современные тенденции / П. М. Староконь, Р. М. Шабаев // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. – 2019. – № 4. – С. 157–169.

69. Сутурина, Л. В. Медикаментозное лечение дисгормональных заболеваний молочной железы: доказанное и спорное / Л. В. Сутурина, Ю. В. Иванова // Эффективная фармакотерапия. – 2018. – № 26. – С. 28–33.
70. Ткаченко, Л. В. Период менопаузального перехода: риски и их профилактика / Л. В. Ткаченко, Н. И. Свиридова // Медицинский алфавит. – 2020. – № 16. – С. 26–30.
71. Торшин, И. Ю. "Быстрый эффект" б-аланина при приливах : сравнительное исследование взаимодействий б-аланина, таурина и глицина с глициновыми рецепторами / И. Ю. Торшин, О. А. Громова, О. А. Лиманова // Гинекология. – 2012. – Т. 14, № 2. – С. 65–69.
72. Торшин, И. Ю. Хемотранскриптомный анализ молекулы 7-гидроксиматаирезинола на опухолевые клетки молочной железы человека линии MCF7 / И. Ю. Торшин, А. Н. Рубашкина, О. А. Громова // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2023. – Т. 17, № 5. – С. 584–596. DOI 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.409.
73. Торшин, И. Ю. Экспертный анализ данных в молекулярной фармакологии / И. Ю. Торшин, О. А. Громова. – Москва : Изд-во МЦНМО, 2012. – 768 с.
74. Фибросклероз и склерозирующий аденоз с микрокальцинатами в молочной железе. Молекулярный патогенез, своевременная диагностика и лечение / Е. Л. Муйжнек, В. И. Киселев, О. Э. Якобс [и др.] // Исследования и практика в медицине. – 2019. – Т. 6, № 2. – С. 75–85.
75. Хемотранскриптомный анализ молекулы оротовой кислоты указывает на противовоспалительные, нейропротекторные и кардиопротекторные свойства лиганда магния / И. Ю. Торшин, О. А. Громова, Л. Э. Федотова [и др.] // Фарматека. – 2013. – № 13(266). – С. 95–104.
76. Хемотранскриптомный анализ 7-гидроксиматаирезинола, 17-эстрадиола, фитоэстрогена β -ситостирола и эпигаллокатехин-3-галлата / И. Ю. Торшин, А. Н. Рубашкина, Н. П. Лапочкина, О. А. Громова // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2020. – Т. 14, № 3. – С. 347–360. DOI 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2020.152.

77. Хемореактомный анализ сукцината этилметилгидроксипиридина / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Л. Э. Федотова, А. Н. Громов // Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. – 2016. – Т. 8, № 3. – С. 53–60.
78. Чартаева, А. Э. Факторы риска развития фиброзно-кистозной мастопатии / А. Э. Чартаева, Д. Т. Ибрагимова // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека : материалы IV Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием. XIV Областной фестиваль «Молодые ученые - развитию Ивановской области». – Иваново, 2018. – С. 479–480.
79. Эль Акад, Е. В. Закономерности гормональной регуляции при диффузной доброкачественной дисплазии молочных желёз : специальность 14.03.03 «Патологическая физиология», 14.01.01 «Акушерство и гинекология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Эль Акад Елена Викторовна. – Томск, 2014. – 138 с. – Место защиты: Научно-исследовательский институт фармакологии СО РАМН.
80. 7(S)-hydroxymatairesinol protects against tumor necrosis factor- α -mediated inflammation response in endothelial cells by blocking the MAPK/NF- κ B and activating Nrf2/HO-1 / D. Yang, C. X. Xiao, Z. H. Su [et al.] // Phytomedicine. – 2017. – Vol. 32. – P. 15–23. DOI 10.1016/j.phymed.2017.04.005.
81. A meta-analysis of estrogen replacement therapy and risk of epithelial ovarian cancer / S. S. Coughlin, A. Giustozzi, S. J. Smith, N. C. Lee // Journal of clinical epidemiology. – 2000. – Vol. 53, № 4. – P. 367–375.
82. A Next Generation Connectivity Map : L1000 Platform and the First 1,000,000 Profiles / A. Subramanian, R. Narayan, S. M. Corsello [et al.] // Cell. – 2017. – Vol. 171, № 6. – P. 1437-1452.e17. – DOI 10.1016/j.cell.2017.10.049.
83. A thirteen week dietary toxicity study with 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMRlignan) in rats / B. Lina, H. Korte, L. Nyman, M. Unkil // Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2005. – Vol. 41, № 1. – P. 28–38.

84. Activated eosinophils infiltrate MCF-7 breast multicellular tumor spheroids / P. M. Furbert-Harris, I. Laniyan, D. Harris [et al.] // *Anticancer Res.* – 2003. – Vol. 23, № 1A. – P. 71–78.
85. Adolescent diet and incidence of proliferative benign breast disease / H. J. Baer, S. J. Schnitt, S. J. Connolly [et al.] // *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers.* – 2003. – Vol. 12, № 11. – P. 1159–1167.
86. Anticancer effects of a plant lignan 7-hydroxymatairesinol on a prostate cancer model in vivo / A. Bylund, N. Saarinen, J. X. Zhang [et al.] // *Experimental biology and medicine.* – 2005. – Vol. 230, № 3. – P. 217–223.
87. Antioxidant and antitumor effects of hydroxymatairesinol (HM-3000, HMR), a lignan isolated from the knots of spruce / L. Kangas, N. Saarinen, M. Mutanen [et al.] // *European Journal of Cancer Prevention.* – 2002. – Vol. 11. – P. S48–S57.
88. Antitumor activities of the synthetic retinoid ST1926 in two-dimensional and three-dimensional human breast cancer models / P. Aouad, M. Saikali, R. Abdel-Samad [et al.] // *Anticancer Drugs.* – 2017. – Vol. 28, № 7. – P. 757–770.
89. Are patients with mastalgia anxious, and does relaxation therapy help? / H. Fox, L. G. Walker, S. D. Heys [et al.] // *The Breast.* – 1997. – Vol. 6, № 3. – P. 138–142.
90. Autotaxin Derived From Lipoprotein(a) and Valve Interstitial Cells Promotes Inflammation and Mineralization of the Aortic Valve / R. Bouchareb, A. Mahmut, M. J. Nsaibia [et al.] // *Circulation.* – 2015. – Vol. 132, № 8. – P. 677–90. DOI 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.016757.
91. Baber, R. J. IMS Recommendations on women's midlife health and menopause hormone therapy / R. J. Baber, N. Panay, A. Fenton // *Climacteric.* – 2016. – Vol. 19, № 2. – P. 109–150. DOI 10.3109/13697137.2015.1129166.
92. Behandlung zyklusabhängiger Brustschmerzen mit einem Agnus castus-haltigen Arzneimittel / W. Wuttke, G. Splitt, C. Gorkow, C. Sieder // *Geburtshilfe und Frauenheilkunde.* – 1997. – Vol. 57, № 10. – P. 569–574.

93. Benign proliferative breast disease with and without atypia / C. Coutant, G. Canlorbe, S. Bendifallah, F. Beltjens // *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction*. – 2015. – Vol. 44, № 10. – P. 980–995.
94. Breast cancer risk associated with benign breast disease : systematic review and meta-analysis / S. W. Dyrstad, Y. Yan, A. M. Fowler, G. A. Colditz // *Breast cancer research and treatment*. – 2015. – Vol. 149, № 3. – P. 569–575.
95. Brisson, J. Mammographic parenchymal features and breast cancer in the breast cancer detection demonstration project / J. Brisson, A. S. Morrison, N. Khalid // *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. – 1988. – Vol. 80, № 19. – P. 1534–1540.
96. Chemopreventive effects of hydroxymatairesinol on uterine carcinogenesis in Donryu rats / S. I. Katsuda, M. Yoshida, N. Saarinen [et al.] // *Experimental biology and medicine*. – 2004. – Vol. 229, № 5. – P. 417–424.
97. Christianson-Heiska, I. The use of primary hepatocytes from brown trout (*Salmo trutta lacustris*) and the fish cell lines RTH-149 and ZF-L for in vitro screening of (anti) estrogenic activity of wood extractives / I. Christianson-Heiska, B. Isomaa // *Toxicology in Vitro*. – 2008. – Vol. 22, № 3. – P. 589–597.
98. Cyclic progestin therapy for the management of mastopathy and mastodynia / U. H. Winkler, A. E. Schindler, U. S. Brinkmann [et al.] // *Gynecological Endocrinology*. – 2001. – Vol. 15, Issue sup6. – P. 37–43.
99. Cyclical mastalgia : prevalence and associated health and behavioral factors / D. N. Ader, J. South-Paul, T. Adera, P. A. Deuster // *Journal of Psychosomatic Obstetrics & Gynecology*. – 2001. – Vol. 22, № 2. – P. 71–76.
100. Cyclical mastalgia and breast cancer risk : results of a French cohort study / G. Plu-Bureau, M. G. Lê, R. Sitruk-Ware, J. C. Thalabard // *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. – 2006. – Vol. 15, № 6. – P. 1229–1231.
101. Desrosiers, M. R. Effect of leaf digestion and artemisinin solubility for use in oral consumption of dried *Artemisia annua* leaves to treat malaria / M. R. Desrosiers, P. J. Weathers // *J. Ethnopharmacol.* – 2016. – Vol. 190. – P. 313–318. DOI 10.1016/j.jep.2016.06.041.

102. Diagnosis and management of benign breast disorders. Clinical management guidelines for obstetrician-gynecologists // *Obstetrics & Gynecology*. – 2016. – Vol. 127. – Practice Bulletin № 164. – P. e141–156.
103. Dietary flaxseed as a strategy for improving human health / M. Parikh, T. G. Maddaford, J. A. Austria [et al.] // *Nutrients*. – 2019. – Vol. 11, № 5. – P. 1171.
104. Early life factors and incidence of proliferative benign breast disease / H. J. Baer, S. J. Schnitt, J. L. Connolly [et al.] // *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*. – 2005. – Vol. 14, № 12. – P. 2889–2897.
105. Effect of thermal heating on some lignans in flax seeds, sesame seeds and rye / E. Gerstenmeyer, S. Reimer, E. Berghofer [et al.] // *Food chemistry*. – 2013. – Vol. 138, № 2–3. – P. 1847–1855.
106. Effects at two years of a low-fat, high-carbohydrate diet on radiologic features of the breast : results from a randomized trial / N. F. Boyd, C. Greenberg, G. Lockwood [et al.] // *Journal of the National Cancer Institute*. – 1997. – T. 89, № 7. – C. 488–496.
107. Effects of the 5-HT_{2A} antagonist mirtazapine in rat models of thermoregulation / A. C. Pawlyk, S. Cosmi, P. D. Alfinito [et al.] // *Brain research*. – 2006. – Vol. 1123, № 1. – P. 135–144.
108. Efficacy of topical nonsteroidal antiinflammatory drugs in mastalgia treatment / T. Colak, T. Ipek, A. Kanik [et al.] // *J. Am. Coll. Surg.* – 2003. – Vol. 196, № 4. – P. 525–530.
109. Ehrlich ascites carcinoma / M. Ozaslan, I. D. Karagoz, I. H. Kilic, M. E. Guldur // *Afr. J. Biotech.* – 2011. – Vol. 10, № 13. – P. 2375–2378.
110. Elevated high-density lipoprotein cholesterol and dietary fat intake in women with cyclic mastopathy / P. J. Goodwin, A. Miller, M. E. Del Giudice [et al.] // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 1998. – Vol. 179, № 2. – P. 430–437.
111. Estrogenic activity of 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMR/lignanTM) from Norway spruce (*Picea abies*) knots and of its active metabolite enterolactone

- in MCF-7 cells / M. Cosentino, F. Marino, M. Ferrari [et al.] // *Pharmacological research*. – 2007. – Vol. 56, № 2. – P. 140–147.
112. Faiz, O. Management of breast pain / O. Faiz, I. S. Fentiman // *International journal of clinical practice*. – 2000. – Vol. 54, № 4. – P. 228–232.
113. Gene structure and expression of the mouse dyskeratosis congenita gene, *dkc1* / N. S. Heiss, D. Bachner, R. Salowsky [et al.] // *Genomics*. – 2000. – Vol. 67, № 2. – P. 153–163.
114. Goldstein, D. M. Pathway to the clinic : inhibition of P38 MAP kinase. A review of ten chemotypes selected for development / D. M. Goldstein, T. Gabriel // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 5, № 10. – P. 1017–1029.
115. Growth factor receptor expression in squamous lesions : modifications associated with oncogenic human papillomavirus and human immunodeficiency virus / F. Walker, L. Abramowitz, D. Benabderrahmane [et al.] // *Human Pathology*. – 2009. – Vol. 40, № 11. – P. 1517–1527. DOI 10.1016/j.humpath.2009.05.010.
116. High prevalence of premalignant lesions in prophylactically removed breasts from women at hereditary risk for breast cancer / N. Hoogerbrugge-van der Linden, P. Bult, L. M. de Widt-Levert [et al.] // *Journal of Clinical Oncology*. – 2003. – Vol. 21, № 01. – P. 41–45.
117. HMDB : the Human Metabolome Database / D. S. Wishart, D. Tzur, C. Knox [et al.] // *Nucleic Acids Res.* – 2007. – Vol. 35, Suppl. 1. – P. D521-D526.
118. Hormonal therapy for the prevention of cardiovascular disease in postmenopausal women / H. M. Boardman, L. Hartley, A. Eisinga [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2015. – № 3. – CD 002229. DOI 10.1002/14651858.CD002229.pub4.
119. Human IFNAR2 deficiency : lessons for antiviral immunity / C. J. Duncan, S. M. Mohamad, D. F. Young [et al.] // *Sci Transl Med.* – 2015. – Vol. 7, № 307. – P. 307ra154.
120. Hydroxymatairesinol and its mammalian metabolite enterolactone reduce the growth and metastasis of subcutaneous AH109A hepatomas in rats / D. Miura,

- N. M. Saarinen, Y. Miura [et al.] // Nutrition and cancer. – 2007. – Vol. 58, № 1. – P. 49–59.
121. Hydroxymatairesinol, a novel enterolactone precursor with antitumor properties from coniferous tree (*Picea abies*) / N. M. Saarinen, A. Warri, S. I. Makela [et al.] // Nutrition and cancer. – 2000. – Vol. 36, № 2. – P. 207–216.
122. Immunomodulatory activity of the lignan 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMR/lignan™) extracted from the heartwood of Norway spruce (*Picea abies*) / M. Cosentino, F. Marino, R. C. Maio [et al.] // International immunopharmacology. – 2010. – Vol. 10, № 3. – P. 339–343.
123. Intake of fiber and nuts during adolescence and incidence of proliferative benign breast disease / X. Su, R. M. Tamimi, L. C. Collins [et al.] // Cancer Causes & Control. – 2010. – Vol. 21, № 7. – P. 1033–1046.
124. Is hyperandrogenemia protective for fibrocystic breast disease in PCOS? / E. Ozkaya, E. Cakir, M. Cinar [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2012. – Vol. 28, № 6. – P. 468–471.
125. KICSTOR recruits GATOR1 to the lysosome and is necessary for nutrients to regulate mTORC1 / R. L. Wolfson, L. Chantranupong, G. A. Wyant [et al.] // Nature. – 2017. – Vol. 543, № 7645. – P. 438–442.
126. Laidlaw, M. Effects of a breast-health herbal formula supplement on estrogen metabolism in pre-and post-menopausal women not taking hormonal contraceptives or supplements : a randomized controlled trial / M. Laidlaw, C. A. Cockerline, D. W. Sepkovic // Breast Cancer: Basic and Clinical Research. – 2010. – Vol. 4. – P. BCBCR. S6505.
127. Lifetime physical activity and the incidence of proliferative benign breast disease / M. M. Jung, G. A. Colditz, L. C. Collins [et al.] // Cancer Causes & Control. – 2011. – Vol. 22. – P. 1297–1305.
128. Lignans 7-hydroxymatairesinol and 7-hydroxymatairesinol 2 exhibit anti-inflammatory activity in human aortic endothelial cells / E. Spilioti, B. Holmbom, A. G. Papavassiliou, P. Moutsatsou // Molecular nutrition & food research. – 2014. – Vol. 58, № 4. – P. 749–759.

129. Lignans and Terpenoids from the leaves of *Schisandra chinensis* / G. Z. Liu, Y. Liu, Y. P. Sun [et al.] // *Chemistry & Biodiversity*. – 2020. – Vol. 17, № 4. – P. e2000035.
130. Lignans by photo-oxidation of propenyl phenols / M. DellaGreca, M. R. Iesce, L. Previtiera [et al.] // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2008. – Vol. 7. – P. 28–32.
131. Long-term clinical outcomes in women with breast pain in the absence of additional clinical findings: mammography remains indicated / M. Noroozian, L. F. Stein, K. Gaetke-Udager, M. A. Helvie // *Breast cancer research and treatment*. – 2015. – Vol. 149, № 2. – P. 417–424.
132. Lumsden, M. A. The NICE Guideline–Menopause : diagnosis and management / M. A. Lumsden // *Climacteric*. – 2016. – Vol. 19, № 5. – P. 426–429.
133. Mammographic features and breast cancer risk : effects with time, age, and menopause status / C. Byrne, C. Schairer, J. Wolfe [et al.] // *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. – 1995. – Vol. 87, № 21. – P. 1622–1629.
134. Mason, B. R. An analysis of movement and discomfort of the female breast during exercise and the effects of breast support in three cases / B. R. Mason, K. A. Page, K. Fallon // *Journal of Science and Medicine in Sport*. – 1999. – Vol. 2, № 2. – P. 134–144.
135. Mastalgia / V. Rosolowich, E. Saettler, B. Szuck [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. – 2006. – Vol. 28, № 1. – P. 49–57.
136. Menopausal hormone replacement therapy and risk of ovarian cancer / J. V. Lacey Jr, P. J. Mink, J. H. Lubin [et al.] // *Jama*. – 2002. – Vol. 288, № 3. – P. 334–341.
137. Molecular determinants of polyubiquitin linkage selection by an HECT ubiquitin ligase / M. Wang, D. Cheng, J. Peng, C. M. Pickart // *EMBO J*. – 2006. – Vol. 25, № 8. – P. 1710–1719.
138. Mouchemore, K. A. Neutrophils, G-CSF and their contribution to breast cancer metastasis / K. A. Mouchemore, R. L. Anderson, J. A. Hamilton // *FEBS J*. – 2018. – Vol. 285, № 4. – P. 665–679.

139. Murshid, K. R. A review of mastalgia in patients with fibrocystic breast changes and the non-surgical treatment options / K. R. Murshid // *Journal of Taibah University Medical Sciences*. – 2011. – Vol. 6, № 1. – P. 1–18.
140. Network meta-analysis of erlotinib, gefitinib, afatinib and icotinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer harboring EGFR mutations / W. Liang, X. Wu, W. Fang [et al.] // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, № 2. – e85245. DOI 10.1371/journal.pone.0085245.
141. Neuroprotective effect of protein kinase C delta inhibitor rottlerin in cell culture and animal models of Parkinson's disease / D. Zhang, V. Anantharam, A. Kanthasamy, A. G. Kanthasamy // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2007. – Vol. 322, № 3. – P. 913–922.
142. Oikarinen, S. I. Chemopreventive activity of crude hydroxysymtairesinol (HMR) extract in ApcMin mice / S. I. Oikarinen, A. M. Pajari, M. Mutanen // *Cancer letters*. – 2000. – Vol. 161, № 2. – P. 253–258.
143. Olovnikov, A. M. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon / A. M. Olovnikov // *J. Theor. Biol.* – 1973. – Vol. 41, № 1. – P. 181–190.
144. Oncogenic protein MTBP interacts with MYC to promote tumorigenesis / B. C. Grieb, M. W. Gramling, M. P. Arrate [et al.] // *Cancer Res.* – 2014. – Vol. 74, № 13. – P. 3591–3602.
145. Onstad, M. Benign breast disorders / M. Onstad, A. Stuckey // *Obstetrics and Gynecology Clinics*. – 2013. – Vol. 40, № 3. – P. 459–473.
146. Oxidative transformations of lignans / P. A. Runeberg, Y. Brusentsev, S. M. Rendon, P. C. Eklund // *Molecules*. – 2019. – Vol. 24, № 2. – P. 300.
147. Oxidized Phospholipids, Lipoprotein(a), and Progressio of Calcific Aortic Valve Stenosis / R. Capoulade, K. L. Chan, C. Yeang [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2015. – Vol. 66, № 11. – P. 1236–1246. – DOI 10.1016/j.jacc.2015.07.020.
148. Peng, M. SZT2 dictates GATOR control of mTORC1 signalling / M. Peng, N. Yin, M. O. Li // *Nature*. – 2017. – Vol. 543, № 7645. – P. 433–437.

149. Pharmacokinetics and bioavailability of plant lignan 7-hydroxymatairesinol and effects on serum enterolactone and clinical symptoms in postmenopausal women : a single-blinded, parallel, dose-comparison study / J. K. Udani, D. J. Brown, M. O. C. Tan, M. Hardy // *Journal of the American College of Nutrition*. – 2013. – Vol. 32, № 6. – P. 428–435.
150. Prenatal developmental toxicity study with 7-hydroxymatairesinol potassium acetate (HMRLlignan) in rats / A. P. M. Wolterbeek, A. Roberts, H. Korte [et al.] // *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. – 2004. – Vol. 40, № 1. – P. 1–8.
151. Prospective study of growth and development in older girls and risk of benign breast disease in young women / C. S. Berkey, W. C. Willett, A. L. Frazier [et al.] // *Cancer*. – 2011. – Vol. 117, № 8. – P. 1612–1620.
152. PubChem : Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities / E. Bolton, Y. Wang, P. A. Thiessen, S. H. Bryant // *Annual Reports in Computational Chemistry*. – Elsevier, 2008. – Vol. 4. – P. 217–241.
153. Quantification of a broad spectrum of lignans in cereals, oilseeds, and nuts / A. I. Smeds, P. C. Eklund, R. E. Sjöholm [et al.] // *Journal of agricultural and food chemistry*. – 2007. – Vol. 55, № 4. – P. 1337–1346.
154. Radical and superoxide scavenging activities of matairesinol and oxidized matairesinol / S. Yamauchi, T. Sugahara, Y. Nakashima [et al.] // *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. – 2006. – Vol. 70, № 8. – P. 1934–1940.
155. Rapalogs and mTOR inhibitors as anti-aging therapeutics / D. W. Lamming, L. Ye, D. M. Sabatini, J. A. Baur // *J. Clin. Invest.* – 2013. – Vol. 123, № 3. – P. 980–989. – DOI 10.1172/JCI64099.
156. Reassurance in the treatment of mastalgia / A. C. S. Barros, Jr. J. Mottola, C. A. Ruiz [et al.] // *The breast journal*. – 1999. – Vol. 5, № 3. – P. 162–165.
157. Ridge, R. J. Partial N-terminal amino acid sequence of the anti-neoplastic urinary protein (ANUP) and the anti-tumour effect of the N-terminal nonapeptide of the unique cytokine present in human granulocytes / R. J. Ridge, N. H. Sloane // *Cytokine*. – 1996. – Vol. 8, № 1. – P. 1–5.

158. Rossouw, J. E. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women : principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled trial / J. E. Rossouw // *Jama*. – 2002. – Vol. 288. – P. 321–333.
159. Rye, lignans and human health / G. Hallmans, J. X. Zhang, E. Lundin [et al.] // *Proceedings of the Nutrition Society*. – 2003. – Vol. 62, № 1. – P. 193–199.
160. Samson, K. LEE011 CDK inhibitor showing early promise in drug-resistant cancers / K. Samson // *Oncology Times*. – 2014. – Vol. 36, № 3. – P. 39–40. – DOI 10.1097/01.COT.0000444043.33304.c1.
161. SanМолЖа, M. B. M. A clinico-pathological study on benign breast diseases / M. B. M. SanМолЖа, K. Panda, S. Dasiah // *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. – 2013. – Vol. 7, № 3. – P. 503.
162. Santen, R. J. Benign breast disorders / R. J. Santen, R. Mansel // *N. Engl. J. Med*. – 2005. – Vol. 353, № 3. – P. 275–285.
163. Schindler, A. E. Dydrogesterone and other progestins in benign breast disease: an overview / A. E. Schindler // *Archives of gynecology and obstetrics*. – 2011. – Vol. 283, № 2. – P. 369–371.
164. Screening analyses of pinosylvic stilbenes, resin acids and lignans in Norwegian conifers / H. Hovelstad, I. Leirset, K. Oyaas, A. Fiksdahl // *Molecules*. – 2006. – Vol. 11, № 1. – P. 103–114.
165. Side effects and sociobehavioral factors associated with the discontinuation of hormone therapy in a Massachusetts health maintenance organization / R. F. Reynolds, C. M. Obermeyer, A. M. Walker, D. Guilbert // *Menopause*. – 2001. – Vol. 8, № 3. – P. 189–199.
166. Silencing Inc-ASA2B-2 Inhibits Breast Cancer Cell Growth via the mTOR Pathway / J. Li, J. Zhang, L. Jin [et al.] // *Anticancer Res*. – 2018. – Vol. 38, № 6. – P. 3427–3434.
167. Silvera, S. A. N. Benign proliferative epithelial disorders of the breast : a review of the epidemiologic evidence / S. A. N. Silvera, T. E. Rohan // *Breast cancer research and treatment*. – 2008. – Vol. 110, № 3. – P. 397–409.

168. SLURP1 is a late marker of epidermal differentiation and is absent in Mal de Meleda / B. Favre, L. Plantard, L. Aeschbach [et al.] // *J. Invest. Dermatol.* – 2007. – Vol. 127, № 2. – P. 301–308.
169. Smeds, A. I. Chemical characterization of high-molar-mass fractions in a Norway spruce knotwood ethanol extract / A. I. Smeds, P. C. Eklund, S. M. Willför // *Phytochemistry.* – 2016. – Vol. 130. – P. 207–217.
170. Smith, R. L. Evaluation and management of breast pain / R. L. Smith, S. Pruthi, L. A. Fitzpatrick // *Mayo Clinic Proceedings.* – Elsevier, 2004. – Vol. 79, № 3. – P. 353–372.
171. STRAW+ 10 International Menopause Society, The American Society for Reproductive Medicine / S. D. Harlow, M. Gass, E. Janet [et al.]. – The Endocrine Society, The North American Menopause Society, 2011.
172. Structural determinants of plant lignans for growth of mammary tumors and hormonal responses in vivo / N. M. Saarinen, P. E. Penttinen, A. I. Smeds [et al.] // *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* – 2005. – Vol. 93, № 2–5. – P. 209–219.
173. The influence of progesterone gel therapy in the treatment of fibrocystic breast disease / M. Brkic, S. Vujovic, M. F. Ivanisevic [et al.] // *Open Journal of Obstetrics and Gynecology.* – 2016. – Vol. 6, № 5. – P. 334–341.
174. The relationship between components of tumour inflammatory cell infiltrate and clinicopathological factors and survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer / Z. M. Mohammed, J. J. Going, J. Edwards [et al.] // *Br. J. Cancer.* 2012. – Vol. 107, № 5. – P. 864–873.
175. The STAT-ROS cycle extends IFN-induced cancer cell apoptosis / Y. Wang, X. Yu, H. Song [et al.] // *Int. J. Oncol.* – 2018. – Vol. 52, № 1. – P. 305–313.
176. Torshin, I. Y. Bioinformatics in the post-genomic era : physiology and medicine / I. Y. Torshin. – New York : Nova Biomedical Books, 2007. ISBN 1-60021-752-4.
177. Torshin I. Y. Bioinformatics in the post-genomic era: sensing the change from molecular genetics to personalized medicine / I. Y. Torshin. – New York : Nova Biomedical Books, 2009. ISBN: 978-1-60692-217.

178. Torshin, I. Y. Sensing the change from molecular genetics to personalized medicine / I. Y. Torshin. – New York : Nova Biomedical Books, 2009. ISBN 1-60692-217-0.
179. Torshin, I. Yu. On solvability, regularity, and locality of the problem of genome annotation / I. Yu. Torshin // *Pattern Recognition and Image Analysis*. – 2010. – Vol. 20, № 3. – P. 386–395.
180. Torshin, I.Y. The study of the solvability of the genome annotation problem on sets of elementary motifs / I. Yu. Torshin // *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. – 2011. – Vol. 21, № 4. – P. 652–662.
181. Torshin, I. Y. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs. Part 1: fundamentals of modern chemical bonding theory and the concept of the chemograph / I. Y. Torshin, K. V. Rudakov // *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. – 2014. – Vol. 24, № 1. – P. 11–23.
182. Torshin, I. Y. On the application of the combinatorial theory of solvability to the analysis of chemographs : part 2. local completeness of invariants of chemographs in view of the combinatorial theory of solvability / I. Y. Torshin, K.V. Rudakov // *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. – 2014. – Vol. 24, № 2. – P. 196–208.
183. Torshin, I. Y. Combinatorial analysis of the solvability properties of the problems of recognition and completeness of algorithmic models. part 1: factorization approach / I. Y. Torshin, K.V. Rudakov // *Pattern Recognition and Image Analysis (Advances in Mathematical Theory and Applications)*. – 2017. – Vol. 27, № 1. – P. 16–28.
184. Torshin, I. Y. Topological Chemograph Analysis Theory As a Promising Approach to the Simulation Modeling of the Quantum-Mechanical Properties of Molecules. Part I : On the Generation of Feature Descriptions of Molecules / I. Y. Torshin, K. V. Rudakov // *Pattern Recognition and Image Analysis*. – 2021. – Vol. 31, № 4. – P. 873–883. DOI 10.1134/S1054661821040246.

185. Torshin, I. Y. Topological Chemograph Analysis Theory As a Promising Approach to Simulation Modeling of Quantum-Mechanical Properties of Molecules. Part II : Quantum-Chemical Interpretations of Chemograph Theory / I. Y. Torshin, K. V. Rudakov // *Pattern Recognition and Image Analysis*. – 2021. – Vol. 31, № 4. – P. 884–896. DOI 10.1134/S1054661821040258.
186. Treatment of cyclical mastalgia with a solution containing a *Vitex agnus castus* extract : results of a placebo-controlled double-blind study / *ABTOPBI* // *The Breast*. – 1999. – Vol. 8, № 4. – P. 175–181.
187. TRF2 and apollo cooperate with topoisomerase 2alpha to protect human telomeres from replicative damage / J. Ye, C. Lenain, S. Bauwens [et al.] // *Cell*. – 2010. – Vol. 142, № 2. – P. 230–242.
188. Uptake and metabolism of hydroxymatairesinol in relation to its anticarcinogenicity in DMBA-induced rat mammary carcinoma model / N. M. Saarinen, R. Huovinen, A. Warri [et al.] // *Nutrition and cancer*. – 2001. – Vol. 41, № 1–2. – P. 82–90.
189. Uptake of 3-iodothyronamine hormone analogs inhibits the growth and viability of cancer cell / M. Rogowski, L. Gollahon, G. Chellini, F. M. Assadi-Porter // *FEBS Open Bio*. – 2017. – Vol. 7, № 4. – P. 587–601.
190. *Vitex agnus-castus* for the treatment of cyclic mastalgia : a systematic review and meta-analysis / S. L. Ooi, S. Watts, R. McClean, S. C. Pak // *Journal of Women's Health*. – 2020. – Vol. 29, № 2. – P. 262–278.
191. Vorher, H. Fibrocystic breast disease : pathophysiology, pathomorphology, clinical picture, and management / H. Vorher // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 1986. – Vol. 154, № 1. – P. 161–179.
192. Wang, C. Architecture and assembly of mammalian H/ACA small nucleolar and telomerase ribonucleoproteins / C. Wang, U. T. Meier // *EMBO J*. – 2004. – Vol. 23, № 8. – P. 1857–1867.
193. Xu, K. mTOR signaling in tumorigenesis / K. Xu, P. Liu, W. Wei // *Biochim Biophys Acta*. – 2014. – Vol. 1846, № 2. – P. 638–654. DOI 10.1016/j.bbcan.2014.10.007.