

ОТЗЫВ

официального оппонента д.б.н., профессора Колесниковой Натальи Владиславовны на диссертационную работу Бакеевой Алины Евгеньевны на тему: «Патогенетическое обоснование применения оригинальных ректальных суппозиторий с экстрактом куркумы при экспериментальном колите», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология

1. Актуальность избранной темы. Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) являются одними из самых сложных гастроэнтерологических патологий, характеризующихся ростом их распространенности, смещением дебюта на более ранний возраст, увеличением тяжелых и появлением осложненных форм. В настоящее время ВЗК считаются многофакторными, поскольку они развиваются под влиянием неблагоприятных экологических факторов, дисбиотических изменений кишечной микрофлоры, иммунной недостаточности, сочетание которых способствует формированию у генетически предрасположенных субъектов наиболее выраженных неадекватных иммунных реакций на комменсальную микрофлору и нарушений барьерной функции слизистой оболочки ЖКТ. Однако этиологические и патогенетические аспекты ВЗК сегодня изучены недостаточно, без чего невозможна разработка новых подходов к диагностике и терапии этих многофакторных заболеваний.

Исследование патогенеза ВЗК с позиций главного патофизиологического принципа – использования экспериментальных искусственно конструируемых моделей патологий, дает возможность строго контролировать совокупность воздействующих патогенных факторов и разрабатывать методы патогенетической терапии.

В этой связи, диссертационное исследование Бакеевой А.Е., базирующееся на использовании экспериментальной модели колита, является весьма своевременным и актуальным, поскольку его результаты могут существенно дополнить имеющиеся представления о механизме развития ВЗК, обозначить ведущие патогенетические звенья заболевания, определить его диагностические и прогностические критерии, и обосновать новые подходы к патогенетической терапии, связанные с локальным применением безопасных лекарственных средств растительного происхождения. Среди таковых интерес представляет растительный экстракт корневища *Curcuma longa*, действующее начало которого (куркумин) обладает антиоксидантным, цитопротекторным,

антиапоптогенным, противовоспалительным, иммуномодулирующим, антимикробным действием, продемонстрированным при ряде хронических воспалительных заболеваний.

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации Бакеевой А.Е., базируется на общей цели исследования, связанной с патогенетическим обоснованием эффективности ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы оригинального состава при экспериментальном колите, для реализации которой автором сформулировано 4 конкретные задачи, четко отражающих суть обозначенной проблемы. Объем и дизайн диссертационного исследования полностью соответствуют требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Диссертационная работа Бакеевой А.Е. выполнена на высоком методическом уровне с использованием широкого спектра современных методов исследования, включающих экспериментальное моделирование, морфометрические, клинические, гематологические, биохимические, иммунологические, иммуногистохимические, фармацевтические и статистические методы исследования. Поставленную в диссертационной работе цель следует считать достигнутой, полученные результаты, обладающие научной новизной и достоверностью – весьма убедительными, а сформулированные по результатам исследований выводы – достаточно аргументированными.

3. Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Достоверность полученных результатов подтверждается их адекватной математической обработкой с использованием пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 19 и характеристикой выборок в формате «Me (Q25; Q75)». Так для проверки статистических гипотез в группах использованы непараметрические критерии (U – Манна-Уитни, WW – Вальда-Вольфовитца, K – Краскела-Уоллиса), а с целью выявления корреляционных взаимосвязей между исследуемыми параметрами проведен расчет коэффициента корреляции Спирмена (R).

Абсолютная новизна диссертационного исследования Бакеевой Е.Е. определяется оценкой ряда важных клинико-морфологических и лабораторных признаков в динамике экспериментального колита у крыс. Кроме того, автором разработана новая оригинальная технология создания ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы длинной корневищ на

гидрофильной основе (патент на изобретение № 2743427), применение которых при экспериментальном колите позволяет уменьшить выраженность клинических признаков заболевания, ограничить деструктивные процессы и активировать репарацию в очаге повреждения толстого кишечника. Интерес вызывают также новые данные о механизме протекторного действия экстракта куркумы при экспериментальном колите, обусловленном ПОЛ-ограничивающим и ОМБ-ограничивающим эффектом в очаге повреждения, а также полным или частичным восстановлением показателей иммунного статуса.

Беспорной новизной отличается и проведенный автором сравнительный анализ эффектов экстракта куркумы и 5-аминосалициловой кислоты в составе ректальных суппозиториев, свидетельствующий об их сопоставимости по показателям системного адаптивного иммунитета, свободнорадикального окисления, активности миелопероксидазы и изменениям TNF- α в очаге повреждения, а также по клиническим эффектам в виде снижения процессов деструкции и активации процессов репарации в очаге повреждения толстого кишечника экспериментальных животных.

4. Значимость для науки и практики полученных автором результатов. Полученные на модели экспериментального колита новые фундаментальные сведения о характере изменений системного иммунитета, редокс-потенциала и морфологических изменений в очаге повреждения, существенно расширяют современное представление о механизме развития ВЗК. Практическая значимость полученных результатов связана с обоснованием целесообразности применения оригинальных ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы при экспериментальном колите, позволяющих снизить выраженность его клинических признаков, что обусловлено протекторным локальным действием экстракта куркумы (антиоксидантный эффект в очаге повреждения, коррекция нарушений врожденного и адаптивного иммунитета).

5. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации. Диссертационное исследование имеет экспериментальный доклинический характер, однако его результаты служат серьезным обоснованием для дальнейших клинических исследований эффективности суппозиториев с экстрактом куркумы при различных вариантах ВЗК (болезни Крона, язвенном колите и др.) с последующим внедрением нового лекарственного препарата в клиническую практику.

6. Оценка содержания диссертации, ее завершенности. Диссертация изложена на 238 страницах машинописного текста и имеет традиционную структуру (состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей

материалы и методы исследования, главы с изложением результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы). Следует отметить, что в библиографическом списке 274 (87%) работ представляют собой зарубежные публикации, а 42 (13%) - научные статьи из русскоязычных журналов. Используемые для цитирования и обсуждения полученных результатов литературные источники весьма современны, так как большинство работ относится к последнему десятилетию, а одну треть библиографического списка составляют научные публикации с 2016 по 2021 гг.

Введение сформулировано в традиционном стиле и ясно отражает необходимость планирования и выполнения этой работы, ее целенаправленность, основные задачи исследования, а также новизну и научно-практическую значимость полученных результатов.

В главе «**Обзор литературы**» систематизированы современные представления о патогенезе и перспективных направлениях в терапии ВЗК. Обзор литературы написан хорошим литературно-научным языком с соблюдением этических норм цитирования и носит в целом аналитический характер, благодаря умению соискателя анализировать литературные данные, обобщать их и выражать собственное отношение к тем или иным вопросам. Цель написания данного раздела диссертации можно считать достигнутой, поскольку анализируя литературные данные об особенностях патогенеза ВЗК, о современных методах традиционной терапии и об ограничениях по их использованию (резистентность к терапии, возникновение побочных эффектов), автором обосновывается целесообразность разработки новых безопасных и эффективных терапевтических стратегий, среди которых особый интерес вызывает куркума длинная, препараты которой показали ряд позитивных эффектов при лечении хронических воспалительных заболеваний.

В главе «**Материалы и методы**» представлен дизайн исследования, включающий экспериментальное моделирование колита на лабораторных животных (крысы Wistar), распределенных на опытные и контрольные группы, а также режим использования ректальных суппозиториев, содержащих куркумин, технология изготовления которых и детальная оценка препарата описана в разделе 2.2.5 (фармацевтические методы исследования). Характеристика используемых весьма многочисленных клиничко-лабораторных методов исследования представлена в разделе 2.2 данной главы. Используемые методы отличает их современность, высокий технический и технологический уровень и адекватность поставленным задачам. Достаточно сказать, что определение субпопуляционного состава

лимфоцитов крови крыс линии Wistar проводилось методом проточной цитометрии с использованием специфичных для крыс моноклональных антител зарубежного производства. Следует отметить правильность выбора иммунологических показателей для проверки адекватности экспериментальной модели колита и для оценки эффективности предлагаемого вида терапии, поскольку многие из них (IL-23, TNF α , MPO) являются ключевыми маркерами ВЗК.

Результаты собственных исследований и их обсуждение изложены в 3, 4 и 5 главе диссертации, градуированных на ряд разделов.

Так *в главе 3* представлены результаты исследования гомеостаза лабораторных животных в динамике экспериментального колита, подтверждающие, прежде всего, возможность использования данной модели для реализации цели исследования, а также уточняющие особенности патогенеза экспериментального колита. Соискателем установлена ассоциация клинико-морфологических показателей экспериментального колита с показателями оксидантной системы в виде накопления конечных продуктов перекисного окисления липидов в изопропанольной фазе липидного экстракта и вторичных продуктов окисления белков, а также с изменениями иммунитета в виде увеличения содержания в крови лимфоцитов (CD3+, CD45RA+), моноцитов, нейтрофилов с усилением их функциональной активности; увеличения концентрации IL-23, как ключевого регуляторного цитокина при ВЗК, коррелирующего с активностью заболевания; увеличения сывороточного содержания IgM, IgG а также в виде локального повышения концентрации TNF- α и активности миелопероксидазы.

В разделе 3.5 главы 3 полностью отражены убедительные данные о технологии приготовления ректальных суппозиториев, содержащих экстракт корневищ куркумы длиной, начиная от выбора оптимальной основы для максимального высвобождения действующего вещества из растительного сырья - до определения полного состава суппозиториев с их дальнейшей стандартизацией и определением стабильности.

В главе 4 представлены результаты исследования показателей гомеостаза при экспериментальном колите в условиях применения оригинальных ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы, доказывающие высокую их эффективность, а также раскрывающие механизм их протекторного действия, включающего ПОЛ- и ОМБ-ограничивающие и иммулотропные эффекты препарата в виде снижения выраженности локальной лейкоцитарной инфильтрации, снижения активности фагоцитов и продукции провоспалительных факторов, ограничивающих зону вторичной

альтерации и обеспечивающих снижение активности лимфоцитарных иммунных реакций.

На первый взгляд может показаться, что ограничивая процессы воспаления, посредством ингибирования активации TLR4, звеньев TLR4-зависимого пути, активности NF-κB с редукцией провоспалительных цитокинов, куркумин может негативно повлиять на уровень врожденного противоинфекционного иммунитета. Между тем в условиях экспериментального колита куркумин проявляет свое выраженное модулирующее действие, связанное с ограничением чрезмерных клеточных и гуморальных воспалительных реакций. Наряду с этим, известные данные литературы о способности куркумина оказывать антимикробный эффект в отношении патогенной и условно-патогенной флоры, и регулировать состав кишечной микробиоты не позволяет усомниться в его позитивном влиянии на противоинфекционную защиту организма.

Глава 5 отражает результаты сравнительного анализа влияния ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы и ректальных суппозиториев с 5-аминосалициловой кислотой на показатели гомеостаза в динамике экспериментального колита, свидетельствующие о высокой эффективности ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы оригинального состава, сопоставимой с эффектом ректальных суппозиториев с 5-аминосалициловой кислотой по показателям системного адаптивного иммунитета, свободнорадикального окисления, активности миелопероксидазы, изменениям TNF-α в очаге повреждения, а также по клиническим проявлениям.

Удачное изложение результатов собственных исследований в сравнительном аспекте с данными других авторов в главе *«Заключение»* позволяет оценить новизну полученных результатов и их высокую научно-практическую значимость. Особо следует отметить созданную автором по результатам проведенного исследования компактную, логичную и информативную интегральную схему патогенеза экспериментального колита и позитивных эффектов ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы в составе (Рис.40).

Выводы диссертационного исследования, вполне обоснованы, конкретны, логично вытекают из поставленных задач и полученных в работе результатов, и представляют собой не просто перечисление полученных результатов, а квинтэссенцию всего того нового и существенного, что составляет итоговые результаты научного исследования Бакеевой А.Е.

Автореферат соответствует основным положениям диссертации, которые также отражены в опубликованных 17 научных работах, из которых

12 опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России (4 – на электронном ресурсе, 6 – в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования - Web of Science, Scopus), а 4 работы опубликованы в материалах конференций.

Принципиальных замечаний по работе нет, однако при знакомстве с научным трудом А.Е.Бакеевой у оппонента возникли некоторые вопросы, ответы на которые хотелось бы услышать:

1. В диссертации Вы оперируете термином «экспериментальный колит», а в названии публикаций по результатам исследований присутствует термин «экспериментальная болезнь Крона» - насколько правомочна идентичность этих понятий?
2. Свидетельствуя о сопоставимости эффектов ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы оригинального состава с таковыми у ректальных суппозиториев с 5-аминосалициловой кислотой, можете ли Вы отметить какие-либо преимущества Вашего оригинального препарата?
3. Третий вопрос может прозвучать риторически в условиях публичной защиты диссертации, но все же - почему Вы не исследовали содержание IgA на системном и, особенно, на локальном уровне, как это было сделано в отношении TNF и МПО?

Между тем возникшие у оппонента вопросы имеют дискуссионный характер и несколько не снижают общего весьма позитивного впечатления о диссертационном исследовании А.Е.Бакеевой.

Заключение

Таким образом, диссертация Бакеевой Алины Евгеньевны на тему: «Патогенетическое обоснование применения оригинальных ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы при экспериментальном колите» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология является законченным научно-квалификационным трудом, в котором на основании выполненных автором исследований разработаны положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение важной научной задачи, связанной патогенетическим обоснованием эффективности метода терапии экспериментального колита с помощью ректальных суппозиториев с экстрактом куркумы оригинального состава с уточнением механизма его позитивных эффектов, что является предпосылкой для дальнейшего

клинического изучения эффектов данной лекарственной формы куркумина при различных ВЗК и внедрения его в клиническую практику.

По своей актуальности, степени обоснованности научных положений и выводов, их достоверности, объему выполненных исследований, теоретической и практической значимости, методическому уровню диссертационная работа Бакеевой А.Е. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Правительством Российской Федерации от 24.09.2013 №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.03 – Патологическая физиология, а ее автор достоин присуждения искомой ученой степени.

Доктор биологических наук,
профессор кафедры клинической иммунологии,
аллергологии и лабораторной диагностики
факультета повышения квалификации и
переподготовки специалистов
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский
университет» Минздрава России



Колесникова Наталья Владиславовна

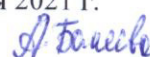


Отзыв официального оппонента поступил «23» апреля 2021 г.
Ученый секретарь Совета Д 004.027.02



И.А. Тузанкина

С отзывом официального оппонента ознакомлена «28» апреля 2021 г.
Соискатель



А.Е. Бакеева