

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук (14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология), профессора, ведущего научного сотрудника Федерального государственного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» Лесиовской Елены Евгеньевны на диссертационную работу Шарофовой Мижгоны Умеджоновны «Экспериментальное изучение лекарственных растений, применяемых в медицинской системе Авиценны для лечения диабета», представленную к защите на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

Актуальность темы

Актуальность темы связана с тем, что распространённость сахарного диабета (СД) 2 типа год от года продолжает расти. Реальное число людей, живущих с диабетом, значительно превышает данные статистических исследований, изучение механизмов диабетогенеза открывает новые возможности контроля распространения сахарного диабета 2 типа, охватившего по данным ВОЗ на 2014 год 422 миллиона взрослых людей. Вызывает тревогу тот факт, что СД 1 типа также широко распространен и поражает всё большее количество детей. В то же время эффективность базисной терапии СД остается не достаточной. Поэтому поиск и разработка эффективных методов профилактики и лечения данной патологии остаются в центре внимания медицинской науки. Общеизвестно немаловажное влияние образа жизни, характера питания, этнических и генетических особенностей современного человека на развитие данной патологии. Растёт интерес специалистов к персонализированным подходам к терапии пациентов с диабетом, а также к комплексному использованию антидиабетических препаратов и средств природного происхождения. В связи с этим, обращение автора к изучению, переосмыслению и экспериментальной проверке опыта Авиценны и подходов древних врачей к лечению данной патологии представляется своевременным и весьма актуальным.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Автором был проведен подробный анализ древних источников, соответствующих разделов «Канона врачебной науки» и современной отечественной и зарубежной литературы. На основании анализа литературных данных обоснованно

вытекает построение дизайна экспериментальной части диссертационного исследования.

Результаты собственных исследований в диссертации можно разделить на следующие основные части. Экспериментальная часть (главы 3-5), где на моделях инсулинорезистентности и аллоксангидратового диабета, вызванных у лабораторных животных (120 лабораторных крысах и 55 кроликах) опытным путём, испытывали антидиабетические эффекты экстрактов надземных частей чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), корней и корневищ герани холмовой (*Geranium collinum* Steph.), цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.), произрастающих на территории Республики Таджикистан. В экспериментальной части работы автором исследованы возможности практического использования принципов терапии по Авиценне: «подобное-подобным» и «противоположное-противоположным». При этом на современных оригинальных и широко применяемых стандартных моделях выявлены особенности этих двух подходов и установлены преимущества второго подхода перед первым. Вторая часть (главы 6 и 7), посвященные фармакологическому и фитохимическому исследованиям экстрактов герани холмовой (*Geranium collinum* Steph.), изучению влияния изолированных соединений, идентифицированных в экстрактах герани холмовой и в сборе «Новобет» на ключевые в патогенезе СД ферменты протеин-тирозинфосфатазу 1В (PTP1B), α -глюкозидазу методами *in vitro* и *in silico*, изучение антиоксидантной активности исследуемых экстрактов *in vitro* с использованием энзимного метода на DPPH. Третья часть собственных исследований посвящена изучению состава ошелачивающих элементов методами масс-спектрометрии жидкостной хроматомасс-спектрометрии (LC/ESI-MS-MS), а также антимикробных свойств изучаемых объектов.

Исследование проведено на достаточном экспериментальном материале. Использованные методы исследования соответствуют целям и задачам диссертационного исследования являются современными и валидными. Выводы и рекомендации научно аргументированы, логично вытекают из всестороннего анализа полученных результатов, подвергнутых адекватной и современной статистической обработке. Выводы свидетельствуют о достижении поставленной цели и отражают все заявленные автором задачи.

Таким образом, результаты диссертационного исследования имеют научно-практическую значимость, позволяя по новому взглянуть на подходы к терапии сахарного диабета 2 типа, обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации Шарофовой М.У., не вызывает сомнений.

Достоверность и новизна полученных данных

Результаты диссертационной работы Шарофовой М.У. получены на достаточном количестве экспериментального материала, с применением сертифицированного, откалиброванного, согласно имеющимся руководствам по эксплуатации оборудования. Фитохимические исследования выполнены с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC). Высокоинформативными энзимными методами *in vitro* и *in silico* с использованием процедур ингибирования РТР-1В и α -глюкозидазы на самом современном уровне изучен механизм антидиабетического действия исследуемых суммарных экстрактов и изолированных соединений. Для определения структур чистых соединений применялся один из самых современных методов системной медицины - ЯМР (ядерно-магнитный резонанс) анализ.

Автором впервые осуществлено тщательное исследование научного наследия Абу Али ибн Сины, выявлены наиболее 84 перспективных растительных источника антидиабетических свойств и отобраны доступные широко распространенные растения с существенной сырьевой базой для углубленного исследования. Выявленные в ходе данного диссертационного исследования растения ранее не подвергались изучению гипогликемических свойств, что открывает новые перспективы для фармакологического скрининга, как начальной стадии создания новых ФП. Полученные автором впервые доказательства влияния растительных экстрактов на ключевые в патогенезе СД ферменты расширяют существовавшие до сих пор представления о возможных механизмах гипогликемического действия ФП.

Применив разработанный в ходе экспериментального исследования новый метод моделирования СД, Шарофова М.У. впервые показала возможности использования этой модели для скрининга потенциально эффективных гипогликемических средств. Впервые из корней герани холмовой выделены и

идентифицированы фенольные соединения и стероидный гликозид, изучены их фармакологические свойства.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Тонкие фитохимические исследования методами *in silico* и *in vitro* экстрактов потенциально антидиабетических растений из перечня средств, составленных на основе изучения «Канона врачебной науки», позволили автору выявить, как наиболее ценные для дальнейших исследований виды растений, так и перспективные биологически активные вещества (БАВ) - субстанции будущих фитопрепаратов (ФП). В результате автор теоретически обосновала и предложила **оптимальную методологию** поиска новых противодиабетических препаратов растительного происхождения. Изучение влияния экстрактов растений на ключевые в патогенетическом плане ферменты **протеин-тирозинфосфатазу 1В (РТР-1В)**, имеющий важное значение в формировании резистентности к инсулину, и **α -глюкозидазу**, принимающую участие в гидролизе углеводов после приёма пищи, лежит в основе понимания механизмов антидиабетического эффекта разрабатываемых ФП. Выделение чистых соединений из экстрактов герани холмовой с наиболее выраженной антидиабетической активностью (катехин, эпикатехин, корилагин и кверцетин), а также 25 фенольных соединений с выраженной антидиабетической и антиоксидантной активностями в составе нового антидиабетического сбора «Новобет» открывает перспективы как для поиска других растений, источников аналогичных веществ, так и для проведения доклинических и клинических исследований субстанций разрабатываемых автором ФП.

Дальнейшее изучение средств природного происхождения из представленного перечня 84 растений, эффективных при СД по Авиценне, позволит в будущем разработать новые, высоко эффективные и надежные в плане безопасности антидиабетические ФП.

Практическая значимость данного диссертационного исследования обусловлена возможностью дальнейшего изучения и практического использования многовекового опыта древних врачей, в частности Авиценны, по терапии сахарного диабета, исходя из индивидуальных особенностей организма конкретного пациента. Учение о «мизадже», т.е. индивидуализированном подходе при назначении схемы лечения, расшифровка значения правильного подхода к терапии диабета, с использованием

тактики терапии «противоположное-противоположным», представляет несомненный интерес для дальнейших научных исследований. Автором доказано соответствие при диабете «холодного мизаджа» по Авиценне состоянию метаболического ацидоза внутренней среды организма, которое усугубляется, в частности, при поступлении в организм окисляющих агентов. Так, в работе доказано, что введение лимонного сока в течение 2-х недель приводит к развитию состояния инсулинорезистентности. Автором экспериментально доказана также возможность коррекции состояния ацидоза и биохимических изменений, соответствующих развитию аллоксангидратового диабетического состояния, введением экстрактов растительных лекарственных средств, обладающих мягкими ощелачивающими и разносторонними оздоровительными эффектами.

Автором внедрены результаты диссертационного исследования в учебный и научно-исследовательский процессы кафедр ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) и Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибн Сино. По материалам диссертационного исследования сделаны 2 рацпредложения, зарегистрированы патенты, опубликованы 5 монографий.

Учитывая растущий интерес к опыту традиционной медицины, выводы и практические рекомендации, сформулированные автором в диссертации, могут быть использованы при обучении студентов, интернов и ординаторов, а также могут быть внедрены в практическую деятельность семейных врачей и эндокринологов поликлинических и стационарных отделений. Предложенные автором методология поиска растений с гипогликемическими свойствами и модель СД могут быть внедрены в практику доклинических исследований специфической активности новых противодиабетических препаратов природного происхождения.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Данные, полученные автором об усугублении состояния метаболического ацидоза при употреблении в пищу кислых продуктов питания следует довести до сведения практикующих врачей, диетологов и нутрициологов. Применение лекарственных средств, содержащих органические кислоты при лечении сахарного

диабета, в том числе аскорбиновую кислоту, рекомендовать при регулярном контроле уровня pH крови и мочи.

В схемы лечения больных диабетом включать лекарственные растения, предложенные Авиценной как антидиабетические средства, приведенные в диссертационном исследовании, богатые щелочными и щёлочноземельными элементами, фенольными соединениями и антиоксидантами.

Необходимо проводить обучающие семинары для практикующих врачей по более широкому использованию природных лекарственных средств и лекарственных растений, обладающих многосторонними терапевтическими свойствами при составлении схем лечения пациентов с сахарным диабетом.

Рекомендовать разработку схем для подготовки и проведения клинических испытаний экстрактов лекарственных растений: надземных частей чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), герани холмовой (*Geranium collinum* Steph.), бессмертника тьянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.) и разработанного автором сбора «Новобет» на основе лекарственных растений экологически чистых, горных регионов Таджикистана.

Полученные в диссертации выводы о необходимости ограничения употребления в пищу лекарственно-пищевых средств, содержащих органические кислоты, с целью профилактики усугубления метаболического ацидоза и сведения о механизмах действия разработанных автором средств рекомендуется использовать в программах обучения высшего медицинского и последиplomного образования всех специалистов и врачей, связанных с проблемами терапии диабета.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, оценка её завершенности

Работа соответствует требованиям, предъявляемым Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации к диссертационным исследованиям на соискание ученой степени доктора медицинских наук.

Диссертация выполнена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований с 3-й по 9-ю главы и их обсуждения, заключения, выводов,

практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа содержит 242 страницы компьютерного текста, иллюстрирована 49 таблицами и 43 рисунками.

Введение содержит актуальность, цели и задачи исследования, грамотно сформулированные автором. Ясно изложены новизна и практическая значимость полученных автором результатов.

В первой главе автор показал глубокое понимание проблемы сахарного диабета и его современного состояния. Рассматривая особенности понимания диабета в медицинской системе Авиценны, автор разъясняет смысл учения о «мизадже» и его использовании при выборе лечения заболеваний древними врачами. Данное учение обосновывало индивидуальный подход к лечению больных в древней и средневековой медицине, когда учитывались особенности изменений натуры человека при том или ином заболевании и применявшихся для её коррекции лечебных средств. Диссертант подробно проанализировал различные аспекты медицинской системы Авиценны, в частности касающихся особенностей лечения сахарного диабета и всесторонне сопоставил их с современным уровнем научных представлений как о самом заболевании, так и с подходами к его лечению.

Вторая глава содержит сведения о методиках проведения теоретического и экспериментального разделов диссертационного исследования. Представлены и описаны схемы проведения экспериментов на животных, методы биохимических, фармакологических и фитохимических исследований *in vitro* и *in silico* в ходе работы, методы статистического анализа.

С третьей по девятую главу диссертантом изложены результаты собственных исследований.

Третья глава содержит данные экспериментального моделирования состояния инсулинорезистентности под влиянием свежего лимонного сока. Подтверждено развитие состояния метаболического ацидоза, что по медицинской системе Авиценны соответствует сдвигу «мизаджа» в «холодную сторону». Данные эксперименты были предприняты с целью выявления возможного влияния на течение диабета подкисляющих продуктов, что соответствует средневековой тактике терапии «подобное–подобным». В результате были получены доказательства того, что употребление в пищу продуктов питания, обладающих окисляющими свойствами,

способствует усугублению состояния метаболического ацидоза, инсулинорезистентности.

В четвёртой главе диссертации изучено антидиабетическое влияние настоя цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского (*Helichrysum thianschanicum* Regel.). Анализ результатов оценки биохимических показателей у животных с диабетом подтверждает антидиабетические свойства настоя цветков и листьев бессмертника тянь-шаньского при введении животным с экспериментальным диабетом. Данное растение входит в список антидиабетических растений, рекомендованных Авиценной для терапии диабета.

В пятой главе диссертации приведены результаты изучения антидиабетических эффектов настоя надземных частей и отвара семян растения чернушки посевной (*Nigella sativa* L.), подтверждающих многогранные лечебные эффекты данного растения при диабете и целесообразность применения тактики терапии «противоположное-противоположным».

В шестой главе представлены результаты экспериментального, фармакологического исследований антидиабетических свойств и фитохимического состава различных водно-спиртовых экстрактов корней герани холмовой (*Geranium collinum*). Впервые из корней растения выделены и идентифицированы фенольные соединения и стероидный гликозид, изученные спиртовые экстракты *G. collinum* в эксперименте ингибировали ферменты РТР-1В и α -глюкозидазу. Показаны результаты изучения антидиабетической активности 10 основных изолированных соединений, выделенных из 50% спиртового экстракта *G. collinum*, где катехин, эпикатехин и корилагин показали наиболее выраженную ингибирующую активность на рекомбинантные человеческие ферменты РТР-1В и α -глюкозидазу.

В седьмой главе показаны результаты фармакологического и фитохимического изучения разработанного диссертантом антидиабетического сбора «Новобет». Наряду с антидиабетической активностью, диссертант изучила антиоксидантные и антимикробные свойства сбора «Новобет», определила преобладание ощелачивающих элементов при исследовании его экстрактов.

В восьмой главе диссертационного исследования с использованием молекулярного подхода к изучению «горячих» и «холодных» натур («мизаджей») растений, диссертант использовала различные вариации энергодисперсионной

рентгеновской спектроскопии, с целью определения характера макро- и микроэлементов в 14 растениях, выбранных из перечня антидиабетических средств по Авиценне. Автор продемонстрировала преобладание ощелачивающих элементов в исследованных антидиабетических растениях.

В девятой главе диссертации описаны антимикробные свойства изученных лекарственных растений.

На основании полученных результатов исследования автором проведён обоснованный анализ в заключение диссертации, из которого были оформлены 10 ёмких выводов и 6 практических рекомендаций.

Работа содержит 242 страницы машинописного текста. Содержание работы раскрывают 49 таблиц и 43 рисунка.

Результаты исследований были доложены на многочисленных отечественных и зарубежных конференциях. Основные положения диссертации отражены в автореферате. По материалам диссертации опубликовано 45 печатных работ, в том числе 22 (из них 11 оригинальных статей) в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ; 5 статей в иностранных журналах индексируемых в международных базах данных Scopus, Web of Science, Index Copernicus International (ICI) и других международных базах данных, опубликованы 5 монографий по проблеме СД в Республике Таджикистан, в том числе одна электронная книга (E-book), 2 методических пособия, 2 патента и 2 рационализаторских предложения.

Замечания по диссертационной работе

Существенных замечаний нет. Однако следует отметить некоторые недостатки технического характера, дизайна таблиц и стилистических недоработок. Так вместо терминов «уратоз» и «оксалатоз» лучше применять термины «уратурия», «оксалатурия», вместо словосочетания «как видно из результатов», лучше «анализ результатов показал, что...» и т.п. Вряд ли уместно писать «биосинтез микроэлементов», имея ввиду, видимо, синтез солей микроэлементов. В таблицах 3.1 и 3.4 в разных строках приведены значения с неодинаковым числом знаков после запятой. В работе не приводятся сведения об острой токсичности исследованных экстрактов.

Хотелось бы получить ответы автора на следующие вопросы:

1. Какие растения среди отобранных 84 видов можно еще рекомендовать для дальнейшего изучения, с учетом, возможно, известных автору доступности их по сырьевым ресурсам, а также по безопасности применения?
2. Уточните, почему при разработке модели инсулинорезистентности Вы ограничились двумя дозами концентрата сока (2 и 5 мл)? А также поясните, как осуществляли выбор доз исследуемых экстрактов?
3. Поясните, пожалуйста, что означает « содержание калия – 4.64% на единицу объема исследуемого экстракта» (с.100)?
4. Каковы могут быть лекарственные формы будущих препаратов на основе герани холмовой и чернушки посевной? Каковы их дополнительные свойства (возможно влияние на сердечно-сосудистую систему, нервную и иммунную системы), кроме изученных в данной работе?
5. Целесообразно ли разрабатывать будущие противодиабетические препараты на основе отдельных веществ, выделенных из изученных растений, или все-таки экстракты применять предпочтительней?
6. Каковы предполагаемые критерии включения пациентов в клинические исследования разработанных фитопрепаратов?
7. Целесообразно ли исследовать в дальнейшем их совместное применение с противодиабетическими синтетическими препаратами и инсулином? Какие преимущества можно при этом ожидать?
8. Существует ли в мировой практике опыт применения герани холмовой и чернушки посевной? И если «да», по каким показаниям их применяют, что известно о побочных эффектах?

Замечания и вопросы не снижают достоинств работы и общего положительного впечатления от неё, а также несомненной теоретической и практической ценности полученных результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Шарофовой Мижгоны Умеджоновны «Экспериментальное изучение лекарственных растений, применяемых в медицинской системе Авиценны

для лечения диабета», представленная к защите на соискание учёной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки) является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная проблема терапии сахарного диабета 2 типа растительными лекарственными средствами, основываясь на изучении опыта Авиценны и приведены доказательства антидиабетических эффектов отобранных объектов с использованием адекватных и современных методов исследования, что имеет важное значение для фармакологии и клинической фармакологии. Диссертационная работа соответствует требованиям пп.9-14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 28.08.2017 г. № 1024), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология.

«11» ноябрь 2019г.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

«Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства»

Адрес: Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, д.1.

Тел.: 89119945710

E-mail: helenles@mail.ru



Е. Е. Лесиовская

Подпись Елены Евгеньевны Лесиовской удостоверяю.

Ученый секретарь Ученого совета

ФГБУН ИТ ФМБА России

доктор медицинских наук



В.С. Черный