

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук (онкология) Немцовой Елены Романовны, ведущего научного сотрудника отдела фармакологии биомедицинских препаратов Московского научно-исследовательского онкологического института имени П.А. Герцена – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский медицинский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на диссертацию Пигарева Сергея Евгеньевича на тему: «Влияние полифенольной композиции, содержащей молибден (BP-C2), на повреждения ДНК, индуцированные физическими и химическими канцерогенными факторами у лабораторных животных» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 3.1.6 – онкология, лучевая терапия

Актуальность темы исследования

XX и XXI столетия характеризуются бурным развитием исследований, изобретательской деятельности и созданием инновационных технологий в различных областях науки и техники. Естественно, что такое прогрессивное изменение технического вооружения человечества не может не привести к значительному количеству отрицательных моментов в виде разнообразных побочных влияний на организм человека. Особенно опасным является развитие радиационных технологий в различных областях: в вооруженных силах многих стран, строительстве гражданских объектов (например, атомных электростанций, атомных кораблей различного назначения), исследовательской деятельности специалистов – физиков, химиков, биологов, лечебных воздействий в ряде областей медицины, прежде всего в онкологии.

Эти отрицательные последствия и побочные реакции, которые имеют различную интенсивность, вплоть до развития злокачественных процессов, требуют пристального исследования биологов, врачей-радиологов, генетиков и других специалистов.

Помимо бурного развития радиационных технологий последние столетия характеризуются существенным прогрессом в фармацевтике, в том числе, в

создании широкого спектра препаратов различного механизма действия для лечения больных со злокачественными опухолями.

Многогранные исследования различного профиля во многих центрах мира показали, что принципиальное влияние, как радиационного воздействия, так и большинства химиопрепаратов на развитие опухолевого процесса, обусловлено их генотоксическим действием, которое вызывает появление нестабильности генома, биологически важных делеций, сшивок и других повреждений ДНК, которые приводят к нарушению клеточной пролиферации и индуцируют разнообразные виды гибели опухолевых клеток: апоптоз, некроз и прочие. Но проблема состоит, как известно, в том, что наряду с опухолевыми клетками, воздействию подвергаются и нормальные клетки, попадающие в зону действия радиации или химиопрепарата. Поэтому ведутся активные исследования как в направлении увеличения терапевтической эффективности противоопухолевых лечебных средств, так и в направлении уменьшения их токсического влияния на нормальные клетки. Однако нельзя сказать, что эта проблема к настоящему времени решена.

При этом показано, что отрицательное воздействие сказывается не только на функциональной состоятельности жизненно важных органов людей, подвергшихся облучению, но также их потомков. Необходимо отметить, что работ, посвященных трансгенерационной передаче возникших изменений генетического материала, крайне мало. Имеются лишь немногочисленные эпидемиологические исследования, которые не позволяют получить достоверные данные для решения проблемы, и единичные экспериментальные работы по изучению канцерогенеза у потомства облученных лабораторных животных. При этом очевидно, что экспериментальные исследования на адекватной выборке лабораторных животных позволяют выявить изменения, обусловленные генотоксическими воздействиями – радиационным воздействием и определенными

химиопрепаратами, а также оценить действие фармацевтического средства, направленного на снижение интенсивности генетических нарушений.

Из сказанного выше вытекает актуальность темы представленной диссертационной работы соискателя Сергея Евгеньевича Пигарева, во Введении и Обзоре литературы которой с использованием обширного пула научной литературы по изложенной теме убедительно доказана актуальность изучения генетических изменений в клетках органов лабораторных животных и их потомства, индуцированных лучевой терапией и химиотерапевтическим лечением, а также использования фармацевтического средства, обладающего антиоксидантными, антигенотоксическими и антимуtagenными свойствами для их ослабления.

Связь с планами соответствующих отраслей науки и практической онкологии

Оценка влияния радиационного воздействия на состояние генетического аппарата клеток лабораторных животных, а также потомства облученных животных имеет важное значение в онкологии для изучения механизма действия и оптимизации схем противоопухолевой лучевой терапии с целью достижения максимального терапевтического эффекта при минимальной выраженности нежелательных последствий, обусловленных индуцированной нестабильностью генома. Более того, полученные результаты могут быть экстраполированы на оценку состояния людей, подвергшихся облучению в результате чрезвычайных ситуаций на объектах производства радиоактивных соединений, атомной энергетики или при определенных военных действиях.

Поиск средств, способных снизить риск и интенсивность генетических изменений, как при лучевом так и при лекарственном воздействиях, необходим, и представляет не только научный, но и значительный практический интерес для многих отраслей медицины, прежде всего, онкологии.

Соискатель С.Е. Пигарев в качестве объекта исследования выбрал фармацевтическую композицию ВР-С2, содержащую полифенольные соединения, полученные при гидролизе лигнина, и молибден. Фактически, представленная диссертационная работа является завершающим этапом многолетнего доклинического исследования композиции. В результате настоящей работы доказана эффективность композиции как генопротекторного средства, и объяснен механизм антиканцерогенного действия при радиационном и химиотерапевтическом воздействиях у лабораторных животных.

Таким образом, связь проведенного исследования с онкологией и лучевой терапией очевидна.

Основные результаты работы, научные положения и выводы, описанные в диссертационной работе, соответствуют п. 2 паспорта специальности «3.1.6. - Онкология, лучевая терапия» («биологические науки»).

Новизна исследования и достоверность полученных результатов, выводов и рекомендаций

Несмотря на то, что изучение объекта настоящего исследования – композиции ВР-С2 проводится в течение нескольких лет как доклиническое исследование, тематика диссертационной работы С.Е. Пигарева обладает несомненной новизной. Оригинальность работы обусловлена поставленной целью – оценить генопротекторное и антиканцерогенное действие ВР-С2, и задач, направленных на достижение цели, среди которых оценка антигенотоксической и антимуtagenной активности у животных, подвергнутых генотоксическим воздействиям, и оценка антиканцерогенного действия композиции на модели трансгенерационного канцерогенеза у потомства облученных животных.

Очень важным фрагментом работы является также изучение самостоятельного генотоксического действия фармацевтической композиции ВР-С2. Этот аспект, к сожалению, далеко не всегда затрагивается при

разработке инновационных лекарственных средств, особенно вспомогательного характера, предназначенных для использования у онкологических больных. Поэтому отрадно было осознать, что соискатель понимает принципиальную важность этого фрагмента работы, направленного на получение необходимого доказательства того, что вспомогательное детоксицирующее средство не проявляет собственной повреждающей активности.

Достоверность полученных результатов, а также выводов, сделанных на их основе, не вызывает сомнений. Она обусловлена адекватным дизайном исследований и достаточным количеством лабораторных животных, включенных в эксперименты.

Широкий диапазон доз при различных аспектах изучения активности фармацевтической композиции ВР-С2 не позволяет усомниться в истинности полученных экспериментальных результатов и выводов, из них вытекающих.

Статистическая обработка полученных данных проведена с использованием адекватных современных методов, позволяющих получить репрезентативные результаты по каждой группе экспериментальных данных.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Полученные результаты свидетельствуют о наличии антигенотоксического и антимуtagenного действия композиции ВР-С2, которое проявляется не только в отношении облученных животных, но также способствует ослаблению проявлений генотоксичности радиационного воздействия у их потомков. Эти результаты имеют несомненную практическую значимость, поскольку свидетельствуют о возможности в дальнейшем продолжить работу в направлении оформления документов на композицию для получения разрешения МЗ РФ на клинические испытания ее в качестве детоксицирующего генопротекторного лекарственного средства для защиты больных со злокачественными процессами и их детей от

выраженных генетических изменений, индуцированных лучевой терапией и/или генотоксическими химиопрепаратами.

Важно отметить также, что значимость полученных результатов не ограничивается онкологией. Поскольку известно, что рост объектов атомной индустрии и развитие радиационных технологий в различных областях может приводить к чрезвычайным ситуациям, сопровождающимся повышенным радиационным воздействием на здоровых людей, обслуживающих эти объекты, и/или находящихся в радиусе их действия, можно прогнозировать, что своевременное использование изученной фармацевтической композиции ВР-С2 будет способствовать снижению выраженности отрицательных последствий таких воздействий.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Диссертационная работа С.Е. Пигарева основана на экспериментальном исследовании фармацевтической композиции ВР-С2, содержащей комплекс полифенольных соединений, полученных при гидролизе лигнина, и молибден. Учитывая известную физиологическую активность полифенольных соединений и функциональную активность молибдена в клетках как кофактора ферментов, а также полученные в работе данные об антигенотоксической и антимуtagenной активности изученной композиции, можно прогнозировать, что в дальнейшем она найдет применение в качестве детоксицирующего и генопротекторного средства в онкологии при проведении лучевой и химиотерапии у больных со злокачественными опухолями различной локализации.

Однако, поскольку в настоящее время композиция ВР-С2 еще не зарегистрирована как лекарственное средство, и даже не прошла клинические испытания, все усилия исследователей, которые проводили ее доклиническое изучение, включая автора настоящей диссертационной работы, должны быть направлены на формирование досье на композицию и подачу его в Минздрав России с целью получения разрешения на клинические испытания. В процесс

проведения клинических испытаний целесообразно включить несколько медицинских учреждений страны онкологического профиля, которые имеют опыт проведения клинических испытаний, желательно, поддерживающих лекарственных препаратов.

Для использования в экспериментальных исследованиях существенный интерес представляет разработанная модель трансгенерационного канцерогенеза. Ее внедрение в спектр методов оценки безопасности противоопухолевой терапии позволит существенно углубить изучение последствий влияния на организм ДНК-повреждающих воздействий различного характера – излучений, химических, биологических и их сочетаний. Результаты оценки трансгенерационного канцерогенеза приведут к оптимизации схем лечебных мероприятий для снижения вероятности повреждения ДНК у детей облученных родителей.

Структура и содержание диссертации

Рукопись диссертационной работы построена по классическому типу и включает разделы: Введение, 4 главы собственных исследований (1. Обзор литературы, 2. Материалы и методы, 3. Результаты исследований, 4. Обсуждение результатов), Заключение, Выводы, Практические рекомендации, Перспективы разработки данной темы, Список сокращений и условных обозначений, Список литературы и Приложение А, содержащее таблицы массы тела животных, подвергнутых различным воздействиям в ходе экспериментов. Диссертационная работа изложена на 140 страницах, иллюстрирована 37 таблицами и 15 рисунками. Список использованной литературы включает в себя 237 источников, из них 223 на иностранных языках.

Раздел «Введение» вводит читателя в курс дела. Фрагменты рукописи «Актуальность исследования» и «Степень разработанности темы» построены на анализе значительного количества современной научной литературы, и убедительно доказывают как актуальность предпринятого

исследования, так и нерешенные вопросы, которые являются предметом изучения в данной работе.

Цель исследования сформулирована четко и полностью соответствует дальнейшему изложению изученной проблемы.

Задачи конкретизируют вопросы, стоявшие перед соискателем, сформулированы лаконично и ясно.

Изложенные во Введении фрагменты «Научная новизна» и «Теоретическая и практическая значимость» нашли полное подтверждение в дальнейшем изложении экспериментальных исследований и сделанных выводов.

Положения, выносимые на защиту, базируются на полученных результатах, достоверность которых обусловлена грамотно спланированным дизайном исследований и достаточным количеством лабораторных животных, включенных в исследование.

Личный вклад автора подтверждается его активным представлением результатов исследований в докладах на научных форумах различного уровня и в публикациях в высокорейтинговых журналах, как отечественных, так и зарубежных.

Глава 1. Обзор литературы логично разделен на три фрагмента. Первый из них, наиболее обширный, посвящен рассмотрению результатов мирового опыта по изучению отдаленных последствий генотоксического воздействия у онкологических пациентов и лиц, подвергающихся профессиональным рискам.

Обзор построен на данных большого количества литературы (237 источников). Этот раздел в значительной степени направлен на представление факторов канцерогенеза, причем представляет собой как исторический экскурс в проблему, так и описание современного ее состояния. Подробно обсуждены данные о ДНК-повреждающих и генотоксических воздействиях – радиационных и химиотерапевтических, и их сочетаниях. Представлены сведения о механизмах повреждающего

действия, а также о наличии трансгенерационных эффектов различных воздействий.

Из представленных данных о развитии геномной нестабильности под влиянием ряда повреждающих генотоксических воздействий логично вытекает необходимость второго фрагмента Обзора литературы – рассмотрение возможности профилактики последствий этих генотоксических воздействий.

Этот раздел демонстрирует информированность соискателя о наличии мероприятий для снижения риска канцерогенеза при ДНК-повреждающих воздействиях, а также об их недостаточной эффективности. Это обосновывает необходимость фармакотерапии для профилактики и лечения возникающих осложнений, то есть еще раз подчеркивает актуальность представленного исследования.

Поскольку объектом изучения в данной работе является комплекс на основе полифенольных соединений, соискатель логично приводит данные о противоопухолевом и антиканцерогенном действии полифенолов, которые получены к настоящему времени. При этом существенным положительным фактором является честность изложения: приводятся не только положительные результаты применения полифенолов, но отмечается также дозозависимость их действия, которая выражается в собственной их генотоксичности при использовании в высоких дозах.

Это обосновывает необходимость оценки самостоятельного генотоксического действия детоксицирующих препаратов в широком диапазоне доз еще на доклиническом этапе их изучения.

В третьем фрагменте Обзора литературы соискатель кратко описывает функции молибдена – еще одного компонента комплекса ВР-С2, который является кофактором ряда ферментов и участвует во многих реакциях окисления и восстановления в клетках.

Глава 2. Материалы и методы содержит все необходимые сведения об объекте исследования – композиции ВР-С2 и методах, использованных при

изучении ее активности: генотоксической, антигенотоксической, антимутагенной у животных – мышей и крыс.

Приведены данные об использованных животных – их характеристики и условия содержания.

Подробно изложены методы оценки состояния ДНК – метод ДНК-комет в нейтральной и щелочной версиях, которые позволяют определить интенсивность повреждающего воздействия по процентному содержанию ДНК в различных участках ДНК-комет.

В разделе «Цитогенетические методы» приведены методики приготовления и анализа образцов биологического материала, полученного у экспериментальных животных – косного мозга и ооцитов, а также методика расчетов антигенотоксического и антимутагенного эффектов.

Большой интерес представляет исследование активности ВР-С2 в модели трансгенерационного канцерогенеза *in vivo*. Методические подходы, использованные для выполнения этого фрагмента работы, подробно описаны в Главе 2, и могут быть воспроизведены заинтересованными исследователями.

Статистическая обработка данных проведена с использованием современных статистических программ, что обуславливает достоверность полученных результатов.

Глава 3. Результаты исследований логично разделена на 5 фрагментов в соответствии с задачами и методами исследований. Как уже отмечено ранее, исследование справедливо начато с оценки генотоксической активности самой композиции ВР-С2.

Тот факт, что композиция ВР-С2 не проявила генотоксического действия у крыс (по данным метода ДНК-комет), свидетельствует о правомочности дальнейших исследований ее как возможного антигенотоксического и антимутагенного агента.

Действительно, результаты показали, что ВР-С2 обладает генопротекторными свойствами и снижает ДНК-повреждающее действие

однократного введения метилметансульфоната, циклофосфида, диоксида, выявленное в клетках костного мозга, печени и крови крыс и мышей.

Интересные различия получены при сравнении однократного и многократного введения диоксида у мышей.

Если однократное введение композиции в дозах 80 и 120 мг/кг совместно с диоксидом снижало его мутагенное действие, то введение композиции многократно в этих дозах увеличивало его повреждающее влияние. Это подтверждает полученные ранее результаты о том, что протекторный эффект полифенолов проявляет обратную дозозависимость, и в высоких дозах усиливает повреждающее действие токсических агентов.

Исследования антимуtagenной активности композиции ВР-С2 в ооцитах мышей при индукции повреждений этопозидом установили, что ВР-С2 дозозависимо снижает анеугенную активность этопозида – ингибитора топоизомеразы II в ооцитах мышей *in vivo* и не влияет на его кластогенную активность.

Особый интерес представляют исследования на модели трансгенерационного канцерогенеза у мышей, поскольку аналогичные исследования в научной литературе встречаются крайне редко.

Несмотря на то, что физиологические показатели крови, масса тела животных, потребление ими корма и воды во всех группах потомства мышей не различались, при применении ВР-С2 и у облученных родителей, и у потомства множественность опухолей, индуцированных уретаном, у самок была на уровне контроля, то есть введение ВР-С2 значимо тормозило канцерогенез. У самцов были получены аналогичные данные, но множественность опухолей немного превышала таковую, наблюдаемую у самок.

Полученные результаты имеют практическую ценность, поскольку можно прогнозировать, что в дальнейшем ВР-С2 найдет применение у людей для профилактики канцерогенеза у детей облученных родителей.

Глава 4. Обсуждение результатов представляет большой интерес для оппонента, поскольку позволяет оценить понимание соискателем качества и значимости полученных результатов. В данном случае, знакомство с обсуждением результатов, представленным соискателем С.Е. Пигаревым, свидетельствует о его глубоком погружении в тему исследований, желании понять во всей полноте полученные результаты, что, конечно, создает о нем положительное впечатление.

Проведено обсуждение всех ключевых результатов диссертационной работы в сравнении с данными литературы по аналогичным вопросам, причем очевиден интерес соискателя к механизмам отмеченных положительных и отрицательных моментов. Ряд вопросов еще требует разрешения, но это естественно для инновационного экспериментального исследования.

В целом полученные данные свидетельствуют о целесообразности дальнейшего продвижения композиции ВР-С2 в качестве антигенотоксического средства.

Выводы полностью соответствуют поставленным задачам исследования. Они представлены очень развернуто, но это оправдано полученными результатами, которые различаются в зависимости от использованных генотоксикантов и доз детоксицирующего агента.

Автореферат полностью соответствует тексту рукописи диссертационной работы.

Личный вклад автора

Личный вклад автора очевиден по прочтении рукописи диссертационной работы.

Соискатель глубоко изучил литературу по интересующей его теме. На основании вопросов, не решенных другими исследователями, он сформулировал цель и задачи собственного исследования, продумал его дизайн и в дальнейшем активно участвовал в экспериментальной работе для решения поставленных задач. С.Е. Пигарев самостоятельно провел

статистическую обработку экспериментальных данных и представил результаты исследований в виде докладов на различных научных форумах и в виде публикаций в высокорейтинговых отечественных и зарубежных журналах.

Вопросы и замечания

Диссертационная работа написана хорошим научным языком, прекрасно иллюстрирована таблицами и рисунками, которые дополняют, но не дублируют текст рукописи.

Существенных замечаний к диссертационной работе нет. Единичные стилистические неточности не мешают восприятию материала и не имеют принципиального значения.

Заключение

Диссертационная работа Пигарева Сергея Евгеньевича на тему «Влияние полифенольной композиции, содержащей молибден (BP-C2), на повреждения ДНК, индуцированные физическими и химическими канцерогенными факторами у лабораторных животных» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия является законченным квалификационным исследованием, выполненным на актуальную тему и обладающим высокой степенью новизны, достоверности и практической значимости. Автором получены результаты, достоверно доказывающие, что объект исследования – композиция полифенольных соединений, полученных из гидролизованного лигнина, с молибденом (BP-C2) обладает антигенотоксическими, антимуtagenными и антиканцерогенными свойствами. Апробированная экспериментальная модель трансгенерационного канцерогенеза, индуцированного у потомства облученных животных-родителей, найдет широкое применение при изучении механизмов канцерогенеза.

По своей актуальности, новизне и научно-практической значимости диссертация полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в актуальной редакции Постановления Правительства РФ от 16.10.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Пигарев Сергей Евгеньевич, достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 3.1.6. Онкология, лучевая терапия.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник отдела
фармакологии биомедицинских препаратов
МНИОИ им. П.А. Герцена – филиала
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский
центр радиологии» Минздрава России
Доктор биологических наук

Немцова Елена Романовна

«25» мая 2026 г.

Подпись доктора биологических наук Е.Р. Немцовой «заверяю»

Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России
Кандидат биологических наук



Жарова Елена Петровна

Контактная информация:

Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации: 125284, г. Москва, 2-ой Боткинский пр., д.3;
Тел. +7(495) 945-80-20, E-mail: mnioid@nmicr.ru