

ОТЗЫВ

официального оппонента **Лесиовской Е.Е.** на диссертационную работу **Крышеня Кирилла Леонидовича** на тему: **«Биохимические механизмы коррекции острого воспаления липидами печени трески»**, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 03.01.04. - биохимия

Актуальность избранной темы. Актуальность выбранной темы определяется сложностью поиска и разработки новых эффективных и безопасных средств для лечения воспалительных заболеваний различной этиологии. Широко применяемые противовоспалительные препараты содержат лекарственные вещества стероидной и нестероидной структуры, оказывающие на организм больного наряду с лечебным действием многообразные негативные эффекты, способные вызвать ряд хронических патологий, включая и фатальные осложнения – синдром Рея (аспирин), синдромы Стивенса-Джонсона и Лайелла (многие НПВС), стероидный диабет и гипертензию (глюкокортикоиды) и мн.др.

Стратегически новым направлением поиска средств для коррекции воспалительных поражений является изучение веществ, регулирующих эндогенные механизмы репарации и активирующих синтез противовоспалительных медиаторов. Значительный интерес работа представляет в связи с тем, что с применением адекватных способов оценки фармакологической активности, были экспериментально изучены и научно обоснованы основные механизмы противовоспалительного действия нового отечественного липидного комплекса (ЛК) на основе полиненасыщенных жирных кислот печени трески.

Новизна выполненного исследования определяется изучением механизмов противовоспалительного действия оригинального липидного комплекса, включенного в состав препарата Афлогилекс. Впервые

установлено, что компоненты ЛК установленного состава оказывают влияние на образование и выброс провоспалительных медиаторов, клеточные мембраны и активность ферментов циклооксигеназы – 2 (ЦОГ-2) и 5-липоксигеназы (5-ЛОГ), взаимодействует с H_1 -рецепторами, что открывает новые возможности для создания безопасных и высокоэффективных противовоспалительных средств.

Теоретическая и практическая ценность работы состоит в том, что проведено доклиническое изучение механизма действия нового комплекса на основе фосфатидилхолина печени трески и доказаны его противовоспалительные свойства. Впервые доказана возможность модуляции активности ЦОГ-2 и 5-ЛОГ природным комплексом непредельных жирных кислот и выявлено у него мембраностабилизирующее и гистаминолитическое действие. Выявленные автором особенности влияния ЛК на процесс воспаления подтверждают необходимость дальнейшего поиска противовоспалительных средств среди природных фосфатидилхолинов, что весьма важно в теоретическом плане.

Практически ценным следует признать вклад автора в оптимизацию методологии изучения механизма действия потенциальных противовоспалительных веществ с применением, как оптимизированных фармакологических тестов, так и новых биохимических подходов. Последовательная оценка влияния изучаемого объекта на активность ферментов 5-ЛОГ, ЦОГ-2, индуцированную продукцию гистамина, фосфорилирование митоген-активированных протеинкиназ (МАП-киназ) и, наконец взаимодействие с Toll-подобными и H_1 –рецепторами позволила автору всесторонне изучить основные механизмы влияния объекта исследования на процесс воспаления.

Диссертация К.Л.Крышеня выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Северо-Западный государственный университет имени И.И.Мечникова» МЗ РФ в рамках плановой НИР. Работа написана в традиционном стиле, состоит

из введения, обзора литературы, экспериментальной части, обсуждения, выводов, заключения и списка литературы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертационное исследование Крышеня К.Л. выполнено на высоком методическом уровне с применением современных биохимических и общепринятых фармакологических методов. Эксперименты выполнены в соответствии со строгим планом, позволившем автору последовательно решить все поставленные задачи.

Для оценки фармакологической активности ЛК были использованы методы, адекватно моделирующие процесс воспаления – «каррагининовый воздушный мешочек» у крыс и контактный дерматит у мышей, а также методики в условиях *in vitro*, позволяющие изучить механизм противовоспалительной активности ЛК. Достоверность полученных результатов подкреплена известными методами, адекватными заявленной цели и корректной статистической обработкой полученных данных. Все исследования в условиях *in vivo* проведены на сертифицированных здоровых животных, содержащихся в соответствии с современными требованиями: было использовано 70 мышей самцов, 112 крыс самцов линии Wistar. Материал для оценки влияния ЛК на H_1 -рецепторы – кишечник, был получен у 12 морских свинок самцов из Питомника лабораторных животных «Рапполово» Российской академии медицинских наук. В работе с животными автор выполнял требования Европейской конвенции по работе с лабораторными животными. Все исследования в условиях *in vitro* проведены в необходимом количестве повторностей и обработаны адекватными методами математической статистики. Автор широко и умело применил биохимический подход к оценке особенностей механизма противовоспалительного действия ЛК, а также использовал гистологический контроль в оценке противовоспалительных свойств объекта исследования на модели контактного дерматита.

Диссертация написана хорошим литературным языком, иллюстрирована 16 таблицами, 46 рисунками. Обзор литературы (глава 1) представляет самостоятельную ценность и может быть рекомендован к изданию совместно с предложенным автором методическим подходом к оценке механизма действия потенциальных противовоспалительных средств. В главе 2 подробно изложены методы экспериментального исследования – биохимические, фармакологические, гистологические и статистической обработки результатов. В главе 3 подробно представлены результаты собственных экспериментальных исследований. В главе 4 представлено подробное обсуждение полученных результатов, 7 выводов достаточно полно отражают результаты, полученные автором на экспериментальных животных и в условиях *in vitro*. Обобщенный анализ результатов приведен в заключении и практических рекомендациях. Список литературы включает 210 источников, из них 202 – на иностранных языках.

Общие замечания по работе:

1. В отдельных разделах диссертации, например 3.1. , 3.2. описание полученных результатов заканчивается простой констатацией полученных данных, было бы более результативно дать анализ установленных фактов и провести сравнение с эталонными веществами, тем более, что такое сравнение по факту выполнено.

2. Не совсем уместно, на наш взгляд, описание ряда экспериментальных моделей в обзоре литературы (1.3 на стр.39-47) и, поскольку , рисунки 10-12 автором, по-видимому, цитируются, ссылки на первоисточник следовало привести в скобках после названия каждого рисунка.

3. Важным аспектом механизма действия противовоспалительных средств является влияние на активность циклооксигеназы – 1. Автор не оценил влияние ЛК на ЦОГ-1 и не обосновал исключение этой методики.

4. Автору не удалось избежать опечаток, не согласованных выражений (С.54, 55, 79,96, 100, 107 и др.) и некорректных формулировок, типа «1 мл на животное», «400 мкг на животное».

Кроме того, хотелось бы получить ответы автора на следующие вопросы:

1. Почему автор не применил ни одну из общепринятых методик оценки процесса репарации, которые как раз и отражают стадию разрешения воспаления?

2. Есть ли принципиальные отличия в составе непредельных жирных кислот объекта исследования от широко применяемых БАД и препаратов на основе ω -3 и ω -6 ПНЖК, и почему ни одно из этих средств не было взято в качестве препарата сравнения?

3. Если возможно, поясните, какую роль в экстракции ЛК выполняют растительное масло и вода?

4. Каковы перспективы внедрения разработанного ЛК, области его применения и поясните, что имеется ввиду под «перспективной платформой для создания противовоспалительных средств»?

4. Какие можно прогнозировать побочные эффекты у изученного ЛК?

Отмеченные недостатки не снижают качество выполненного исследования и не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

Основные результаты диссертации опубликованы в 13 печатных работах, из них 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и 1 статья в авторитетном зарубежном журнале. Они неоднократно обсуждались на различных конференциях и симпозиумах. Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация К.Л.Крышеня на тему «Биохимические механизмы коррекции острого воспаления липидами печени трески» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на современном научном уровне, содержит решение актуальной для фармакологии и биохимии задачи – разработки новых противовоспалительных средств природного происхождения. В работе

приведены научные результаты, имеющие важное теоретическое и практическое значение для экспериментальной и клинической фармакологии и биохимии. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. Диссертационная работа отвечает критериям Постановления правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Крышень Кирилл Леонидович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.06. – фармакология, клиническая фармакология и 03.01.04.- биохимия.

Официальный оппонент,
Ведущий научный сотрудник
лаборатории лекарственной
токсикологии
ФГБУН ИТ ФМБА России
доктор медицинских наук
профессор
(197195 Санкт-Петербург,
Ул. Васенко,4 кв.15
helenles@mail.ru)

Е.Е.Лесиовская

Подпись Е.Е.Лесиовской заверяю
Ученый секретарь
ФГБУН ИТ ФМБА России,
кандидат биологических наук



И.А.Шабунова