



МИНИСТЕРСТВО ОБОРОНЫ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБОРОНЫ РОССИИ)
ВОЕННО-МЕДИЦИНСКАЯ
АКАДЕМИЯ имени С.М. КИРОВА
194044, Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, д. 6, ВМедА

«11» марта 2014 г. № 4/10/211
На № 58-2118-1

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель начальника
Военно-медицинской академии
имени С.М. Кирова
по учебной и научной работе
доктор медицинских наук профессор


Б. КОТИВ
"11" марта 2014 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Крышняя Кирилла Леонидовича на тему: «Биохимические механизмы коррекции острого воспаления липидами печени трески», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 03.01.04 – биохимия

Актуальность темы выполненной работы и ее связь с соответствующими отраслями науки. Диссертационная работа К.Л.Крышняя посвящена решению важной и актуальной проблемы медико-биологической науки – изысканию и изучению новых подходов и средств для лечения острого воспаления. Автор исходит из современных представлений, что в процессе разрешения воспалительного процесса ведущее значение приобретают липидные медиаторы воспаления. К последним относят в первую очередь липоксины, резолвины и протектины, являющиеся продуктами метаболизма омега-3 полиненасыщенных жирных кислот (ω -3 ПНЖК). Хотя к настоящему времени механизмы острого воспаления изучены достаточно хорошо, включая и молекулярный уровень, значение отдельных компонентов этого процесса, роль эйкозаноидов в развитии противовоспалительного действия разных фармакологических агентов остается освещенной явно недостаточно. Возникает закономерный вопрос: нужно ли использовать для лечения острого воспаления только ингибиторы синтеза простагландинов, каковыми являются типичные нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), или же предпочтение отдать продуктам,

содержащим ω -3 ПНЖК, как биологически активным субстратам противовоспалительного типа действия. Именно этой проблеме и посвящена диссертационная работа К.Л.Крышняя. Безусловно, она выполнена на актуальную тему и ориентирована на практическое применение. Это подкрепляется различными современными подходами к решению поставленных цели и задач исследования, адекватными методами исследования, большим объемом полученного материала, его корректной обработкой и глубоко научным истолкованием. Работа К.Л.Крышняя по своей сути представляет фундаментальный труд, направленный на решение важнейших фармакологических, биохимических и практических медико-биологических задач.

Работа выполнена в рамках научно-исследовательских программ, разрабатываемых в Северо-Западном государственном медицинском университете им. И.И. Мечникова МЗ РФ, где традиционно изучаются актуальные фундаментальные проблемы биологии и медицины.

Обоснованность основных научных положений, выводов и практических рекомендаций. Целью исследования диссертанта явилось установление механизма действия липидов печени трески при остром воспалении в эксперименте *in vivo*, *in vitro*, на изолированных тканях и клеточных линиях. На основании цели сформулированы конкретные задачи исследования (7), предусматривающие оценку действия липидного комплекса из печени трески на активность 5-липооксигеназы и циклооксигеназы 2-го типа, на высвобождение гистамина базофилами, взаимодействие с H_1 -рецепторами гистамина, «карагениновый» отек, развитие контактного дерматита, фосфорилирование протеинкиназ и взаимодействие с Toll-рецепторами. Для решения этих вопросов автор использовал большой набор современных физиологических, фармакологических и биохимических методов исследования. Постановка цели и задач работы конкретны и логичны. Примененные методы исследования, а также характер и количество полученного материала адекватны задачам диссертации. Значительный объем данных, их статистическая обработка и высокий уровень

анализа позволяют считать результаты диссертационной работы достоверными, а положения и выводы – обоснованными.

В ходе исследований диссертант сделал ряд важных находок. Так, доказано, что изучаемый липидный комплекс снижает образование продуктов превращения арахидоновой и линолевой кислот под действием циклооксигеназы 2-го типа и 5-липооксигеназы. Липиды печени угнетают дегрануляцию тучных клеток, снижая выброс гистамина. На изолированной подвздошной кишке морской свинки продемонстрировано, что липидный комплекс блокирует H_1 -рецепторы гистамина, устраняя спазм кишки. В опытах с «каррагениновым» отеком и контактным дерматитом подтверждено, что липиды печени обладают выраженными противовоспалительными свойствами, снижая инфильтрацию лейкоцитов в тканях и угнетая синтез простагландина $F_{2\alpha}$. Автор делает вывод, что липидный комплекс из печени трески можно использовать как средство лечебного воздействия (лечебного питания) при остром воспалительном процессе. Результаты исследований репрезентативны, корректно обработаны и не вызывают сомнений.

Представленный большой объем экспериментальных биохимических и фармакологических данных (исследования выполнены на морских свинках, крысах Вистар, беспородных мышах, культурах клеток базофилов крысы, моноцитов человека, клеточных линиях типа НЕК-Blue-hTLR) с привлечением биохимических, физиологических и фармакологических методов исследования), их корректная статистическая обработка, четкое представление в виде рисунков, таблиц и обстоятельного описания, а также достаточный анализ позволяет квалифицировать результаты диссертационной работы как достоверные, а основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации как вполне обоснованные.

Научная новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Диссертант описывает в работе оригинальные данные, что липидный комплекс (защищено патентом РФ

на изобретение №2420213 от 2009 г.) обладает выраженными противовоспалительными свойствами на моделях «каррагенинового» отека у крыс и контактного дерматита у мышей. Биохимический механизм противовоспалительного действия липидного комплекса заключается в блокаде ферментов циклооксигеназы 2-го типа, 5-липооксигеназы, H_1 -рецепторов гистамина без вовлечения Toll-подобных рецепторов в разных тканях.

Работа относится к исследованиям в области фундаментальной биологии и медицины, она может быть квалифицирована как доказательное обстоятельное исследование по разделу экспериментальной фармакологии и биохимии противовоспалительных средств.

Значимость для науки и практики полученных соискателем результатов. Диссертационная работа К.Л.Крышняя, прежде всего, имеет важное теоретическое значение, поскольку она по направленности изначально является фундаментальной, нацеленной на разработку конкретных медицинских задач. Более конкретно, теоретическое значение работы состоит в доказательстве научного положения, что липидный комплекс из печени трески обладает лечебными свойствами при остром воспалении. Это связано с угнетением ферментов обмена простагландинов, блокадой H_1 -рецепторов гистамина без вовлечения Toll-подобных рецепторов. Результаты исследования вошли в регистрационное досье ветеринарных препаратов афлогилекс, раствор для инъекций 0,1%-ный и афлогилекс, гель 0,02%-ный. Данные, представленные в работе, следует рассматривать как новые, имеющие важное теоретическое и практическое значение для фармакологии, биохимии, общемедицинской практики и ветеринарии.

Структура и содержание работы. Работа изложена на 139 страницах машинописи, иллюстрирована 46 рисунками и 16 таблицами. Построение диссертации традиционное и соответствует ГОСТу РФ. Диссертация включает введение (7 стр.), обзор литературы, состоящий из 4 разделов (42 стр.), главу методов исследования (19 стр.), главу собственных результатов исследований

(32 стр.), обсуждение результатов (12 стр.), выводы (2 стр.), заключение (2 стр.), практические рекомендации (1 стр.), список использованной литературы (22 стр.). Литературный указатель включает 210 ссылок (8 отечественных и 202 иностранных) на работы, опубликованные в основном за последние 10 лет. Диссертация написана хорошим литературным языком и легко читается.

Полученные данные корректно обработаны с применением современных методов статистики. Используемые статистические методы позволяют адекватно оценивать полученные результаты.

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 5 журнальных статей (3 статьи списка ВАК) и 8 тезисов. Публикации в целом отражают основные результаты, полученные в диссертационной работе.

Основные положения автореферата диссертации полностью соответствуют разделам и содержанию диссертационной работы. Автореферат оформлен в соответствии с требованиями ВАК.

Диссертация содержит 7 выводов. Все выводы обоснованы и логично вытекают из основного содержания диссертации. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и заключений соискателя следует признать высокой, что обеспечивается как количественной стороной изученного материала, так и качеством его обработки.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы. Результаты исследований К.Л. Крышеня могут быть полезны для научно-исследовательских работ, проводимых в Первом Московском государственном медицинском университете им. И.М. Сеченова Минздрава РФ, Российском государственном исследовательском медицинском университете Минздрава РФ, Университете дружбы народов МОН, НИИ фармакологии им. В.В. Закусова РАМН (Москва), НИИ Института военной медицины МО РФ, Институте токсикологии ФМБА РФ, Первом Санкт-Петербургском государственном медицинском университете им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ, Воен-

но-медицинской академии им. С.М. Кирова МО РФ (Санкт-Петербург), Смоленской государственной медицинской академии Минздрава РФ, других медицинских учреждениях Министерства здравоохранения РФ, Российской академии наук, Российской академии медицинских наук, медицинских, биологических и ветеринарных факультетах университетов (курс «противовоспалительные средства», «аналгетики»), для фармакологов, клинических фармакологов, клинических биохимиков, врачей общей практики, ветеринарных врачей.

Замечания и вопросы. Принципиальных замечаний по диссертации нет. Однако в ходе прочтения диссертации К.Л. Крышеня возник ряд мелких замечаний и вопросов, носящих уточняющий характер.

1. В работе показано, что липидный комплекс в широком диапазоне доз (0,1-100 мкг/мл) практически не влияет на Toll-подобные рецепторы (вывод 7, стр. 113). Значит ли это, что противовоспалительное действие липидного комплекса не затрагивает интерлейкиновый каскад воспаления? Просьба специально пояснить данный вопрос.
2. При оценке антигистаминного действия липидного комплекса автор использовал кетотифен в качестве препарата сравнения. В дозе 1 мкг/мл липидный комплекс оказывал сходный противовоспалительный эффект, как кетотифен в дозе 2 нг/мл (табл. 15, стр. 92, рис. 32 и 33, стр.93). В меньших дозах липидный комплекс был малоактивен, хотя EC50 для комплекса приводится равной 18,1 мкг/мл. Все же, можно ли сравнивать противовоспалительный эффект кетотифена (да и любого другого НПВС) по активности с липидным комплексом? Если да, почему?
3. В практических рекомендациях (стр. 115) указано, что полученные данные о противовоспалительных эффектах и механизмах липидного комплекса из печени трески могут быть использованы в качестве «платформы при создании новых противовоспалительных средств...». Имеется ли в виду, что это должны быть лекарственные средства, или же нужно больше по-

- треблять печень трески как уникальный продукт для профилактики и лечения различных воспалительных заболеваний? Просьба уточнить.
4. В списке литературы приведены только 8 ссылок на отечественных авторов, из них 5 ссылок на работы с участием самого автора (стр.118). Складывается впечатление, что автор недостаточно проработал отечественную литературу по противовоспалительным средствам, которой превеликое множество. Просьба пояснить, с чем связан такой перекоп в цитировании преимущественно зарубежных авторов и явное пренебрежение цитированием отечественных исследователей.
 5. Также в качестве замечания следует обратить внимание, что в тексте диссертации и, особенно, в автореферате встречается много сокращений, не все они расшифрованы или расшифровываются по тексту. Это затрудняет восприятие материала и требует поиска этих расшифровок в тексте диссертации. Также имеются опечатки по тексту, иногда достаточно досадные.

Все приведенные вопросы и замечания не меняют сути работы, а носят дискуссионный характер. В целом, работа производит весьма благоприятное впечатление.

Заключение. Диссертация К.Л. Крышена на тему «Биохимические механизмы коррекции острого воспаления липидами печени трески», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 03.01.04 – биохимия, является законченной научной квалификационной работой, в которой на основании самостоятельно выполненных автором исследований содержится решение актуальной научной задачи, связанной с изучением молекулярного механизма действия оригинального липидного комплекса из печени трески, что имеет существенное значение для экспериментальной фармакологии и биохимии. Оценивая работу в целом, следует отметить, что ее актуальность, научная новизна, объем, глубина проведенных исследований, современное ме-

тодическое обеспечение работы, эффективное использование статистических методов анализа, достоверность полученных фактических данных, практическая значимость результатов, полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах, их научная трактовка, позволяют заключить, что научная работа К.Л. Крышеня отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Министерства образования и науки РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, а ее автор Крышень Кирилл Леонидович заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 03.01.04 – биохимия.

Отзыв рассмотрен и обсужден на научном заседании кафедры фармакологии и научно-исследовательского отдела медико-биологических исследований Научно-исследовательского центра ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны РФ «06» марта 2014 г., протокол № 07/2014.

Заведующий кафедрой фармакологии
ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия
им. С.М. Кирова» МО РФ
Главный фармаколог Министерства обороны РФ
доктор медицинских наук профессор



П.Д.Шабанов

Старший научный сотрудник
Научно-исследовательского отдела
медико-биологических исследований НИЦ
ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия
им. С.М. Кирова» МО РФ
доктор биологических наук профессор



И.В.Зарубина

«06» марта 2014 года

Подписи Шабанова П.Д. и Зарубиной И.В. заверяю
Начальник отдела кадров Военно-медицинской академии им. С.М.Кирова
Д. Гусев

