

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

На диссертацию Мосалева Кирилла Игоревича на тему:

«Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия конъюгата бетулоновой кислоты с 9-(4-метилпиперазин-1-илметил)-2-(4-метил-1,2,3-триазол-1-ил) ореозелоном», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. –

Биохимия

### **Актуальность темы исследования**

Диссертационная работа Мосалева Кирилла Игоревича посвящена исследованию иммуностропных свойств у представителя нового класса соединений – конъюгата бетулоновой кислоты (БК) и фурукумарина (ФК). Актуальность данной темы не вызывает сомнений, ведь препараты лупановых тритерпеноидов (в т.ч. и БК) и ФК уже применяются в клинической практике, однако они имеют некоторые недостатки. В частности, биодоступность БК ограничена ввиду низкой растворимости в воде, а ФК являются токсичными субстанциями. В тексте диссертации справедливо отмечено, что большинство современных работ по изучению производных БК проводится на культурах клеток, в них, главным образом, исследуются апоптогенные свойства и токсичность веществ для различных клеточных линий (в основном – опухолевых), в то время как на долю экспериментов *in vivo* с оценкой органотоксичности приходится лишь небольшая часть публикаций.

### **Оценка содержания диссертации**

Рассматриваемая диссертация построена по стандартному плану: она содержит введение, обзор литературы, главы, посвящённые материалам и методам исследования, результатам исследования и их обсуждению, заключение и выводы. Диссертация изложена на 157 страницах, содержит 43 рисунка и 25 таблиц. Список литературы включает 161 источник, в том числе 144 англоязычных.

В части обзора литературы, посвящённой исходным компонентам БК-ФК автор сосредоточился, в основном, на рассмотрении свойств лупановых тритерпеноидов: подробно описаны механизмы противовоспалительного, противомикробного и противоопухолевого эффектов бетулина и его производных. На фоне этого описания часть, посвящённая ФК, выглядит меньше и анализ их эффектов в литобзоре менее подробный. Похожий «дисбаланс» обнаруживается и в разделе «характеристика исследуемых генов и белков», где большую часть подглавы занимает описание иммунных медиаторов – цитокинов, ядерного фактора κВ и др., в то время как характеристика генов и ферментов, ответственных за метаболизм ксенобиотиков не столь полна. Методологическая часть, напротив, рассмотрена очень подробно: приведено полное описание методик, приборной и реактивной баз.

Глава «Результаты» содержит множество графических иллюстраций и таблиц, что упрощает понимание материала. Приведённые снимки гистологических микропрепаратов наглядно демонстрируют изменения, вызванные вводимыми в организм животного веществами. Таблицы, содержащие результаты статобработки (значения «р»), с одной стороны отражают её точность, с другой стороны, несколько «перегружают» работу. Отдельного внимания заслуживают результаты работы, их согласованность друг с другом. Повышение экспрессии генов, кодирующих цитокины (*Csf2*, *Il4*, *Il10*, *Tnf*), в костном мозге под воздействием БК-ФК сочетается с повышением относительного содержания Т-лимфоцитов в крови у животных с иммуносупрессией, предобработанных исследуемым конъюгатом. Результаты ПЦР-анализа экспрессии генов *Cyp* в печени сопоставимы с результатами докинг-анализа: изучаемое вещество имеет выраженное сродство к CAR и PXR, являющимися факторами транскрипции генов *Cyp2b10* и *Cyp3a11*. Экспрессия последних была повышена у особей, которым вводился БК-ФК. Результаты гистологического анализа, свидетельствующие о гепатопротекторных свойствах субстанции, подкрепляются полученными нормальными значениями

активности АЛТ в сыворотке у соответствующей группы животных. Полученные в рамках экспериментов данные сопоставимы с литературными, в то же время автором логично объяснены некоторые отклоняющиеся от литературных сведений результаты.

Раздел «Обсуждение результатов исследования» написан грамотно, с достаточным количеством ссылок на литературный материал.

Стоит отметить, что раздел «Практические рекомендации» имеет в большей степени значение для проведения исследовательских работ и не содержит сведений о внедрении результатов работы на производстве или в сфере здравоохранения. Список использованной литературы и содержательная часть диссертации оформлены надлежащим образом в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления».

#### **Научная новизна исследования и полученных выводов**

Значимость диссертационной работы Мосалева К.И. состоит в получении важных результатов о свойствах нового класса перспективных лекарственных средств – ковалентных соединений БК и ФК. Получены сведения о принципах влияния данного соединения на иммунную систему – посредством повышения экспрессии генов цитокинов в костном мозге и влияния на центральные органы кроветворения. Подобное комбинированное соединение может усиливать иммуностропные свойства исходных компонентов, в связи с чем представляется логичным дальнейшее его изучение на других моделях (например, перевиваемых опухолей) и сопоставление действия БК-ФК с эффектами отдельных составляющих его молекулы. Таким образом, актуальность и новизна работы не вызывают сомнений, сама диссертация выполнена на высоком уровне.

Тем не менее, к работе имеются несколько замечаний:

1. В обзоре литературы недостаточно чётко разграничено классическое противовоспалительное и иммуномодулирующее действие.

2. Недостаточно объяснена роль восстановления иммунорегуляторного соотношения CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> под влиянием исследуемого соединения и в целом роль данного соотношения в диссертации, так как в основном, оно рассматривается в работах, связанных с изучением ВИЧ-инфекции.
3. Не вполне понятно объяснено, как повышение экспрессии генов провоспалительных цитокинов в печени, а также NF-κB p65 может играть положительную роль при опухолевых и вирусных (в частности, при упомянутом в обсуждении вирусном гепатите С) заболеваниях печени.
4. Автором заявляются как «значимые» изменения в экспрессии генов в 1,5–2 раза, однако для содержания м-РНК это достаточно незначительные изменения.
5. Замечания, касающиеся методологической части:
  - Непонятно, как некротические клетки отличались от апоптотических с помощью PI?
  - Если экспрессия генов измерялась относительно контрольной группы, то логичнее было бы среднее значение «контроля» принять равным одному с последующим ранжированием средних значений остальных групп около единицы?
  - ETRA – это трансмембранный белок. Учитывался ли этот факт при проведении докинг-анализа?

### **Заключение**

В целом, несмотря на замечания, работа заслуживает высокой положительной оценки. Результаты работы доложены на 3-ёх конференциях с международным участием и опубликованы в 3 научных статьях в журналах, индексируемых в базе данных Scopus и имеющихся в Белок списке ВАК РФ. По актуальности, объёму проведённых исследований, научно-методическому уровню, новизне и практической значимости результатов, настоящая работа

полностью соответствует критериям пунктов 9–14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 №842 (ред. от 16.10.2024) «О порядке присуждения учёных степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор – Мосалев Кирилл Игоревич заслуживает присуждения ему искомой учёной степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. – Биохимия.

**Официальный оппонент:** кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Лаборатории молекулярной патологии, доцент кафедры фундаментальной медицины ИММТ НГУ  
Чересиз Сергей Владимирович

Адрес: 630090, Новосибирская область, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2  
Раб.тел.: +7 (383) 363-40-08; моб.: +7-913-932-23-90.

Эл.почта: [cheresiz@yandex.ru](mailto:cheresiz@yandex.ru)

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (НГУ)

Подпись Чересиза С.В. заверяю

