

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора биологических наук
Белослудцева Константина Николаевича, на диссертационную работу
Синицыной Дарьи Андреевны на тему «Воздействие дигидрохинолиновых производных
на патогенетические механизмы развития токсического поражения печени у крыс»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы исследования

Токсическое поражение печени как острого, так и хронического характера является одной из причин инвалидизации человека. К числу соединений, поступление в организм которых является наиболее частой причиной повреждения печени, относятся этанол, ацетаминофен, а также тетрахлорметан (CCl_4), применяющийся как промышленный растворитель и экстрагент в химико-физическом синтезе. Повреждающее действие тетрахлорметана, как и большинства прямых гепатотоксинов, обусловлено накоплением в клетках печени его цитотоксических метаболитов, интенсификацией перекисного окисления липидов и активацией редокс-зависимых механизмов повреждения тканей.

В терапии токсического поражения печени используются гепатопротекторные средства, среди которых имеется значительное количество препаратов, полученных из растительного сырья. Вместе с тем, большинство представленных на фармацевтическом рынке лекарственных средств имеет ряд недостатков, включая низкую биодоступность, побочные эффекты со стороны желудочно-кишечного тракта, необходимость длительного приёма и другие. В связи с этим, поиск новых соединений с высоким гепатопротекторным потенциалом является важной и актуальной задачей современной биомедицины. Именно этому и посвящена диссертационная Синицыной Д.А. В диссертационной работе автор исследовал действие двух гидроксипроизводных дигидрохинолина (6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин и 1-бензоил-6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин) на развитие CCl_4 -индуцированного поражения печени у крыс. Выбор тестируемых соединений, а также подходов к оценке их гепатопротекторных свойств представляется целесообразным, что обусловлено имеющимися сведениями о наличии у ряда хинолиновых производных антиоксидантной, антитоксической, противовоспалительной и других видов активности. Проведенный анализ позволил определить, что используемые соединения потенциально могут являться гепатопротекторами при токсическом повреждении печени.

Общая характеристика, структура и оформление диссертации.

Диссертационная работа Дарьи Андреевны Синицыной составлена по традиционной схеме. Она включает в себя введение, литературный обзор, описание материалов и методов

исследования, изложение результатов и их обсуждение, заключение, выводы, список цитируемой литературы. Работа изложена на 173 страницах. Иллюстративный материал представлен 7 таблицами и 24 рисунками, а также 1 таблицей и 8 рисунками в приложении. Список литературы содержит 216 источников.

В разделе «Введение» автор дает обоснование темы, представленной на рассмотрение работы, формирует цель и задачи работы, указывает новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, определяет выносимые на защиту положения, описывает методологию исследования, личный вклад, а также приводит сведения о публикациях и апробации работы на конференциях.

В главе «Обзор литературы» Дарья Андреевна обобщает современные сведения по изучаемой проблематике. Данный раздел состоит из 4 частей, в которых освещены вопросы функционирования и регуляции антиоксидантной системы организма, а также описаны преимущества и недостатки актуальных для гепатологии средств терапии токсических поражений печени. Представлены сведения о спектре биологической активности дигидрохинолиновых производных, обуславливающие актуальность выбора тестируемых соединений с точки зрения перспективных кандидатов в предшественники лекарственных средств.

В главе «Материалы и методы» автор описывает используемые в работе биохимические, молекулярно-биологические, гистологические и иммунологические методы исследования. Методы полностью соответствуют поставленным задачам. Можно с уверенностью заключить, что исследование проведено Дарьей Андреевной на высоком методическом уровне.

Результаты исследования и их обсуждение изложены в 5 главах, логично связанных по смыслу между собой и соответствующих поставленным задачам.

В главе 3 приведены результаты компьютерного анализа биологической активности тестируемых соединений, а также оценка ферментативных маркеров цитолиза гепатоцитов и гистологическое исследование морфологических изменений печени у животных экспериментальных групп. Согласно полученным диссертантом результатам, введение дигидрохинолиновых производных оказывало более выраженное позитивное воздействие на маркерные показатели развития токсического поражения печени по сравнению с карсилом.

В главе 4 приводятся результаты исследования воздействия дигидрохинолиновых производных на интенсивность свободнорадикального окисления в тканях крыс с индуцированным поражением печени. Было показано, что введение дигидрохинолиновых производных крысам с патологией сопровождалось изменением в направлении

контрольных значений параметров биохемилюминесценции, содержания диеновых конъюгатов и карбонильных остатков аминокислот в белках, а также активности аконитатгидратазы и концентрации цитрата, что, очевидно, было обусловлено антиокислительными свойствами тестируемых веществ.

Результаты, представленные в главе 5, свидетельствуют о возможности регуляции воспалительного ответа с помощью дигидрохинолиновых производных в условиях CCl_4 -индуцированного поражения печени. Полученные автором данные демонстрируют способность тестируемых соединений подавлять активацию NLRP3-инфламмосомы, каспазы-1 и интерлейкина 1β , что было сопряжено со снижением активности миелопероксидазы и уровня мРНК провоспалительных цитокинов.

В главе 6 содержатся результаты исследования антиапоптотической активности тестируемых веществ на фоне индуцированного токсического поражения печени у крыс. Было показано, что 6-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин способен снижать интенсивность апоптоза, возрастающую на фоне токсического поражения печени, что может быть связано с противоокислительными и противовоспалительными свойствами тестируемого соединения, обуславливающими ингибирование митохондриального и лиганд-опосредованного путей активации апоптоза.

В главе 7 приведены данные об изменении активности ферментов антиоксидантной системы, концентрации неферментативных антиоксидантов, а также уровня транскриптов генов антиоксидантных ферментов и транскрипционных факторов, регулирующих антиокислительный ответ, в условиях действия дигидрохинолиновых производных на фоне развивающейся патологии. Исходя из полученных диссертантом результатов, можно сделать заключение, что введение исследуемых соединений оказывало более выраженный регуляторный эффект на систему антиокислительной защиты по сравнению с карсилом. Было также показано, что помимо изменения уровня транскриптов генов антиоксидантов, тестируемые соединения способны оказывать воздействие на свойства молекул ферментов.

В разделе «Заключение» автор суммирует полученные данные и обозначает перспективы их использования в исследованиях прикладного характера. Большим плюсом является наличие схемы, отражающей основные возможные механизмы воздействия дигидрохинолиновых производных на патогенез токсического поражения печени. Представленные выводы полностью оригинальны.

Степень достоверности результатов исследований, положений и заключений

Степень достоверности полученных Синецкой Д.А. результатов подтверждается воспроизводимостью полученных данных. В работе использовались современные методы исследования в области биохимии, молекулярной биологии и морфологии и гистологии.

Также о достоверности полученных данных свидетельствует то, что они были опубликованы в международных и российских рецензируемых журналах. Таким образом, достоверность результатов, положений и заключения не вызывает сомнений.

Научная новизна, теоретическая и практическая ценность исследования

В рамках представленной работы впервые был проведен анализ возможности коррекции центральных патобиохимических механизмов токсического повреждения ткани печени с помощью тестируемых гидроксипроизводных дигидрохинолинов.

Диссертантом было продемонстрировано, что основными механизмами позитивного воздействия дигидрохинолиновых производных выступала их способность тормозить интенсивность свободнорадикального окисления, регулировать активность апоптотических процессов, а также функционирование антиокислительной системы как на транскрипционном уровне, так и на уровне изменения свойств молекул антиоксидатных ферментов. Кроме того, использование тестируемых соединений способствовало торможению синтеза мРНК провоспалительных цитокинов, находящихся под контролем фактора NF-κB, а также ингибированию сборки NLRP3-инфламмосомы, созревания каспазы-1 и интерлейкина 1β. Выявленные эффекты исследуемых соединений оценивались относительно действия карсила, причем автором было показано, что на большинство оцениваемых параметров дигидрохинолиновые производные оказывали более выраженное воздействие, чем препарат сравнения.

Полученные в работе результаты могут лечь в основу для разработки эффективных стратегий коррекции токсических повреждений печени.

Пожелания, вопросы и замечания.

Давая положительную оценку полученным результатам и сделанным выводам, хотел бы остановиться на некоторых моментах, которые вызывают вопросы и замечания.

1. В диссертации автор говорит о том, что CCl₄ способен индуцировать некротическое повреждение ткани печени (глава 3.3). С другой стороны, автор демонстрирует развитие апоптоза (глава 6). Параллельно автор указывает на развитие адаптационных процессов при действии данного соединения (глава 7.1). Хотелось бы, чтобы автор уточнил, какие все-таки процессы происходят при токсическом повреждении печени четыреххлористым углеродом.

2. В разделе обзор литературы автор описывает лишь два типа клеточной гибели. Данные в этом отношении не слишком современные. Хотелось бы пожелать автору в будущем расширять этот раздел и описывать (или по крайней мере упоминать все типы клеточной гибели). Есть ли при повреждении печени четыреххлористым углеродом признаки такого типа клеточной гибели как ферроптоз?

3. В работе автор проводил анализ токсичности *in silico* дигидрохинолиновых производных с помощью программы PROTOX. Можно было бы порекомендовать автору использовать в будущем несколько предикативных программ для подобного анализа, поскольку использование лишь одного софта не всегда корректно может дать оценку токсичности. В частности, данный софт не описывает, например, токсичность такого соединения как бонгкрековая кислота.

4. Насколько активность дигидрохинолиновых производных, используемых в этой работе, превышает активность исходного этоксихинина?

Критические комментарии к диссертационной работе вызваны интересом к представленным материалам и предложенным объяснениям.

Таким образом, следует признать, что диссертационная работа Д.А. Сеницыной содержит новые научные результаты, имеющие важное значение для развития биохимии и биомедицины. Содержание автореферата и опубликованных статей полностью отражает содержание диссертации. Считаю, что диссертационная работа Дарьи Андреевны Сеницыной на тему «Воздействие дигидрохинолиновых производных на патогенетические механизмы развития токсического поражения печени у крыс» полностью соответствует требованиям в п.9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 (с изменениями от 18 марта 2023 года №415), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Официальный оппонент
Проректор по инновационной деятельности
профессор кафедры биохимии,
клеточной биологии и микробиологии
ФГБОУ ВО «Марийский
государственный университет»



доктор биологических наук, доцент
Белослудцев
Константин Николаевич

доктор биологических наук по специальности 03.01.02 биофизика

Адрес: 424000, Марий Эл, г. Йошкар-Ола, пл. Ленина, д. 1, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Марийский государственный университет»

Телефон: (8362)68-80-02

Сайт: www.marsu.ru; e-mail: bekonik@gmail.com

06.05.2024