

ОТЗЫВ

официального оппонента Поляковой Татьяны Юрьевны, доктора медицинских наук, старшего научного сотрудника лаборатории патофизиологии и экспериментальной терапии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга на диссертацию Пфаргер Юлии Андреевны на тему «Механизмы гипополипидемического действия сесквитерпенового лактона ахиллина», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы диссертации В последние годы убедительно показано, что гипополипидемическая терапия существенно снижает не только риск таких осложнений атеросклероза как коронарная смерть, инфаркт миокарда и стенокардия, но и общую смертность. Общепризнана обязательность проведения терапевтических мероприятий всем больным с гиперлипидемией, невзирая на пол и возраст, сопутствующую патологию, плохой ближайший прогноз основного заболевания. При этом методически правильный подход к гипополипидемической терапии состоит в том, что она должна быть ранней, интенсивной и длиться пожизненно.

В настоящее время для терапии гиперлипидемий используется достаточно большое число лекарственных средств, обладающих различными механизмами действия. Выделяют четыре основных группы гипополипидемических препаратов: ингибиторы гидроксиметил-глутарил (ГМГ)-КоА-редуктазы (статины), секвестранты желчных кислот, фибраты и производные никотиновой кислоты.

Однако, несмотря на широкий спектр синтетических и полусинтетических гипополипидемических препаратов на фармацевтическом рынке, проблема профилактики и терапии дислипидемии и ассоциированных метаболических заболеваний все еще не решена. К тому же многие препараты из вышеназванных групп лекарственных средств характеризуются недостаточно высокой активностью и/или вызывают серьезные побочные эффекты.

В научной литературе описаны гиполипидемические эффекты некоторых сесквитерпеновых лактонов, которые представляют собой обширную по количеству соединений группу и подобно статинам содержат в своей структуре лактонное кольцо. Автор диссертационной работы предлагает дополнить группу гиполипидемических лекарственных средств сесквитерпеновым лактоном ахиллином, который был выделен из растительного сырья учеными АО Международного научно-производственного холдинга “Фитохимия” (г. Караганда, Казахстан). В свете вышеизложенного актуальность исследования Юлии Андреевны, целью которого явилось вскрытие механизмов гиполипидемического действия сесквитерпенового лактона ахиллина при экспериментальной гиперлипидемии, не вызывает сомнений.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования

В диссертационной работе Пфаргер Ю.А. впервые установлены основные молекулярные звенья патогенеза липидных изменений клеточной культуры гепатомы линии НТС, индуцированные жировой эмульсией липофундина. На основании этих результатов разработана оригинальная модель, воспроизводящая основные звенья патогенеза гиперлипидемии на клетках гепатомы линии НТС, которая позволяет изучать отдельные механизмы гиполипидемического действия новых молекул. Доказано снижение уровня триацилглицеролов, холестерина, активных форм кислорода и повышение содержания восстановленного глутатиона в клетках гепатомы при экспериментальной гиперлипидемии *in vitro* под влиянием сесквитерпенового лактона ахиллина. Новыми также являются данные о механизмах гиполипидемического действия ахиллина на моделях острой гиперлипидемии, индуцированной этиловым спиртом и детергентом тритоном WR 1339, а также на модели хронической гиперлипидемии на фоне атерогенной диеты.

Основные результаты диссертационной работы имеют практическое значение и представлены в отчетах по научно-исследовательским работам (договор №216 от 25.10.2012 г. и №77/99 от 19.05.2015 г. между АО

Международным научно-производственным холдингом “Фитохимия” (г. Караганда, Казахстан) и ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России).

В связи с вышесказанным, можно утверждать, что результаты диссертационной работы Ю. А. Пфаргер носят фундаментальный характер и выявляют основные механизмы гипополидемического действия сесквитерпенового лактона ахиллина, что, несомненно, определяет целесообразность проведения дальнейших доклинических исследований.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала и высоким методологическим уровнем данной работы. Первичные материалы обрабатывались с применением адекватных статистических методов, что позволило автору корректно интерпретировать полученные результаты исследования. Положения, выносимые на защиту, выводы, сформулированные в диссертации, подтверждены полученными данными, анализом литературы и являются итогом большой научной работы, проведенной автором.

По материалам диссертации опубликованы 16 работ, в том числе 8 статей в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Результаты исследования были широко представлены и обсуждены на всероссийских и международных конференциях.

Общая характеристика работы

Диссертация изложена на 168 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материал и методы исследования», главы «Результаты и обсуждение собственных исследований», заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений и списка используемой литературы. Работа иллюстрирована 31 рисунком и 11 таблицами. Библиографический указатель включает 262 источника, из них 63 отечественных, 199 иностранных.

Во введении автором убедительно обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, а также подчеркнуты научная новизна и практическая ценность диссертации.

В первой главе проведен анализ отечественной и зарубежной научной литературы по теме исследования. В первом разделе представлены сведения, касающиеся основных мишеней и механизмов гиполипидемического действия лекарственных средств. Далее дана подробная информация об экспериментальных моделях гиперлипидемий. Последний раздел главы посвящен современным подходам к терапии дислипидемических состояний и включает, в том числе, подробное описание перспективных соединений из группы сесквитерпеновых лактонов. Обзор литературы позволяет судить о том, что автор достаточно свободно ориентируется в современных сведениях по теме своей диссертационной работы.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материала и методов исследования, применяемых автором для решения поставленных задач. Высокий методологический уровень работы подтвержден использованием таких современных методических приемов и высокоинформативных лабораторных методов исследования, как культуральные методы, спектрофотометрический анализ, флуориметрический анализ, количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в реальном времени по технологии TaqMan. В завершении главы описаны подходы к статистической обработке результатов исследования.

В третьей главе представлены результаты и обсуждение собственных исследований автора. Впервые установлены молекулярные звенья патогенеза повышения уровня внутриклеточных липидов, индуцированного жировой эмульсией липофундина, на клеточной культуре гепатомы линии НТС. Ими являются ключевые гены липидного обмена: ген фермента 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (*Hmgcr*), карнитин-пальмитоилтрансферазы 1 (*Cpt1a*) и 2 (*Cpt2*), 7 α -гидроксилазы (*Cyp7a1*), ацилКоА:

холестеролацилтрансферазы (*Soat1*) и ацетил-КоА-карбоксилазы (*Acaca*), а также ген рецептора к липопротеинам низкой плотности (*Ldlr*). На этой экспериментальной модели изучен липидоснижающий эффект сесквитерпенового лактона ахиллина в скрининговых исследованиях. Гиполипидемическое действие ахиллина подтверждено и в экспериментах на лабораторных крысах. Автор показала, что на моделях острой гиперлипидемии, индуцированной этиловым спиртом и тритоном WR 1339, курсовое применение ахиллин в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней препятствует развитию гипертриацилглицеролемии и гиперхолестеролемии, а также уменьшает содержание свободных жирных кислот и холестерина в липопротеинах низкой плотности в сыворотке крови крыс. На модели хронической гиперлипидемии, индуцированной высокожировой диетой, курсовое применение ахиллина в дозе 10 мг/кг в течение 14 дней уменьшает уровень триацилглицеролов и холестерина в сыворотке крови и печени экспериментальных животных, что обусловлено увеличением величины экспрессии мРНК генов карнитин-пальмитоилтрансферазы 1 (*Cpt1a*) и 2 (*Cpt2*), 7 α -гидроксилазы (*Cyp7a1*) и ингибированием экспрессии мРНК гена ацетилКоА:холестеролацилтрансферазы (*Soat1*). А снижение содержания холестерина в липопротеинах низкой плотности под влиянием ахиллина связано с повышением экспрессии мРНК гена рецептора к липопротеинам низкой плотности (*Ldlr*). Существенным результатом является выявление антиоксидантного действия сесквитерпенового лактона ахиллина, которое проявляется за счет повышения содержания восстановленного глутатиона и снижения уровня активных форм кислорода в клетках гепатомы на модели экспериментальной гиперлипидемии.

Полученные результаты анализируются автором с учетом современных представлений о патогенезе дислипидемий.

Результаты работы отражены в 6 выводах, которые изложены в краткой форме, убедительны и отражают сущность проделанной работы.

В автореферате в полной мере отражены основные факты и положения диссертации.

В качестве замечания, не умаляющего значимость работы, не могу не сказать о некорректном с моей точки зрения использовании термина «модель гиперлипидемии» в том случае, когда речь идет о внутриклеточных изменениях уровня липидов в культуре клеток гепатомы НТС *in vitro*.

Принципиальных замечаний по работе нет, но в плане дискуссии хотелось бы получить ответы на следующие вопросы:

1. Чем обусловлено именно профилактическое (в сравнении с другими изученными моделями, где исследуемое вещество назначалось в лечебном режиме) назначение сесквитерпенового лактона ахиллина на модели острой гиперлипидемии у крыс, индуцированной 40 %-м раствором этанола?
2. Насколько на Ваш взгляд корректно использовать в качестве модели для изучения метаболизма триацилглицеролов и холестерина, а также механизмов действия веществ, с предполагаемой гиполипидемической активностью, клетки гепатомы НТС? Ведь любой опухолевой клетке присущ метаболический и биохимический атипизм, который, безусловно, затрагивает и липидный обмен. Можно ли утверждать, что клетки гепатомы НТС обладают всеми морфологическими и функциональными характеристиками нормальных гепатоцитов?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Пфаргер Юлии Андреевны «Механизмы гиполипидемического действия сесквитерпенового лактона ахиллина», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 14.03.03 – патологическая физиология, является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена актуальная задача по изучению патогенеза гиперлипидемии на клеточной культуре гепатомы, а также впервые выявлены основные мишени действия сесквитерпенового лактона

ахиллина, что имеет важное значение для фармакологии и медицинской науки в целом.

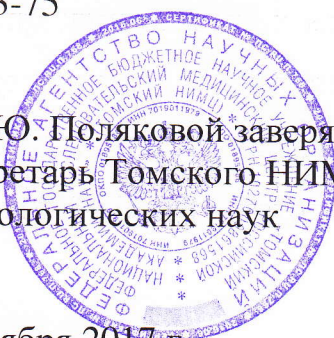
По объему исследований, методическому уровню, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертационная работа полностью соответствует требованиям пункта 9 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Правительством Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Пфаргер Юлия Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология и 14.03.03 – патологическая физиология.

Доктор медицинских наук,
tasha93@mail.ru
8-913-822-93-75



Т. Ю. Полякова

Подпись Т. Ю. Поляковой заверяю:
Ученый секретарь Томского НИМЦ,
кандидат биологических наук



И. Ю. Хитринская

1 ноября 2017 г.