

УТВЕРЖДАЮ

И.о. первого проректора -
проректора по научной работе
РУДН

В.А. Ромашенко



[Handwritten signature]
[Handwritten initials] 2026 г.

ведущей организации - Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» о научно-практической значимости диссертации Мосалева Кирилла Игоревича на тему «Клеточные и молекулярные механизмы иммуномодулирующего действия конъюгата бетулоновой кислоты с 9-(4-метилпиперазин-1-илметил)-2-(4-метилден-1,2,3-триазол-1-ил) ореозелоном», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 1.5.4. Биохимия

Актуальность темы диссертации

Иммунная система традиционно привлекает внимание исследователей как динамичная система многоступенчатых нелинейных реакций, начиная от регуляторных генных и белок-белковых взаимодействий, лежащих в основе внутриклеточных сигнальных путей и реакций отдельных клеток, до все более сложных сетей клеточных взаимодействий, позиционирования и миграции *in vivo*, которые определяют общий иммунный ответ организма. Одна из основных целей прикладной иммунологии — количественная оценка этих

сложных пространственных и временных связей, которая позволяет более избирательно воздействовать на отдельные компоненты целостной системы.

В последние годы наблюдается стремительное развитие биотехнологических, фармакологических и медицинских методов, применимых для функциональной модуляции компонентов иммунной системы. Нередко иммуномодулирующими свойствами обладают лекарственные средства растительного происхождения, однако сложный состав затрудняет их стандартизацию, количественную оценку соответствия современным требованиям, предъявляемым к лекарственным средствам и препаратам. В связи с этим, важнейшее значение приобретают знания о механизмах действия компонентов растительного препарата на молекулярном и клеточном уровнях, его взаимодействия с рецепторами клеток иммунной системы.

Интерес вызывают, в частности, свойства бетулоновой кислоты как биологически активного агента, обладающего широким спектром действия, и её производных. С этой точки зрения диссертационная работа Кирилла Игоревича Мосалева, посвящённая исследованию клеточных и молекулярных механизмов действия конъюгата бетулоновой кислоты с фурокумарином 9-(4-метилпиперазин-1-илметил)-2-(4-метил-1,2,3-триазол-1-ил) ореозелоном, несомненно, актуальна.

Связь работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства

Результаты исследования соединения бетулоновой кислоты позволяют рассматривать его как потенциальный иммуномодулятор и гепатопротектор. Лекарственные средства на основе такого соединения могут быть использованы в терапии социально значимых заболеваний, а исследование её новых производных остаётся актуальной задачей фундаментальной медицины.

Экспериментальные данные, полученные в результате выполненных исследований, могут быть полезны для понимания молекулярных механизмов действия соединений, обладающих иммуностимулирующими свойствами, указывают на вовлечённость регуляторного звена системы метаболизма ксенобиотиков.

Научная новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Новизна исследования обусловлена, прежде всего, выбором изучаемого соединения — конъюгата бетулоновой кислоты с 9-(4-метилпиперазин-1-илметил)-2-(4-метилен-1,2,3-триазол-1-ил) ореозелоном, принадлежащим к фурукумаринам. Синтез соединений, состоящих из фрагментов бетулоновой кислоты и фурукумарина, стал возможен только в последние годы благодаря достижениям органической химии, и свойства такого вещества как биологического агента представляют несомненный интерес.

Автором впервые комплексно проанализирована биологическая активность соединения в отношении культуры иммунных клеток U-937. Оценена динамика экспрессии генов цитокинов *in vitro* иммунными клетками и *in vivo* в костном мозге мышей линии C57Bl/6 под влиянием исследуемого вещества. Показано, что изучаемая субстанция способствует повышению жизнеспособности вышеуказанных клеток и влияет на экспрессию ими генов *IL12A* и *IL10*. Обнаружено влияние субстанции на экспрессию генов провоспалительных (*Tnf*, *Il6*) и противовоспалительных (*Il4*, *Il10*) цитокинов не только в культуре клеток человека, но и на животной модели.

Впервые разносторонне проанализирована совокупность эффектов исследуемого конъюгата как иммуномодулирующего средства. Установлено, что исследуемый конъюгат повышает относительное содержание Т-лимфоцитов в крови животных, которые были подвержены иммуносупрессии. Проведена оценка уровней экспрессии генов и белков, участвующих в метаболизме лекарств, в печени животных, получивших исследуемое действующее вещество.

В результате докинг-анализа обнаружены несколько потенциальных мишеней ковалентного соединения бетулоновой кислоты с фурукумарином. Результаты *in silico* и *in vivo* анализов оказались сопоставимы друг с другом: обнаружено сродство вещества к факторам транскрипции, запускающим экспрессию генов соответствующих ксенобиотик-метаболизирующих ферментов (*Cyp*).

Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов

Результаты проведённого исследования имеют несомненную практическую значимость, поскольку позволяют рассматривать ковалентное соединение бетулоновой кислоты с фурукумарином как основу для разработки принципиально нового лекарственного средства с иммуномодулирующими свойствами, сначала проявляющего элементы противовоспалительного, а затем — иммуностимулирующего эффектов на модели *in vivo*.

Вероятное стимулирующее действие данного вещества на лимфоцитарный росток кроветворения делает актуальным изучение подобных соединений бетулоновой кислоты в иммуносупрессивных состояниях. Кроме того, в работе обсуждается влияние данного соединения на фармакокинетику циклофосфида, что может быть полезно для коррекции побочных эффектов этого препарата.

Личный вклад автора

Личный вклад Мосалева Кирилла Игоревича состоит в практическом выполнении всех этапов диссертационного исследования. Автор глубоко изучил литературу по поставленной проблеме, освоил большой набор методов биохимии и клеточной биологии: им проведена оценка экспрессии генов культурой иммунных клеток методом ПЦР-анализа, выделение и обработка биологического материала, оценка содержания белков в печени методом вестерн-блот анализа, морфометрическое исследование гистологических

препаратов печени, тимуса и селезёнки. Диссертант самостоятельно проводил эксперименты *in vivo*, отработал модель циклофосфамид-индуцированной супрессии у мышей. Автором лично выполнен статистический анализ полученных результатов, а также сформулированы выводы.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты и выводы рекомендуется учитывать при дальнейших исследованиях соединений бетулоновой кислоты и других биологически активных веществ. Результаты исследований можно рекомендовать к использованию в ходе реализации НИР в области разработки иммуностропных лекарственных средств.

Достоверность результатов работы, обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации

Научные положения, выносимые на защиту, выводы, сформулированные по итогам работы, основаны на большом объеме экспериментальных данных, полученных с привлечением современных методов клеточной биологии и биохимии. Работа выполнена с соблюдением требований к валидации методов культивирования и паспортизации культур клеток. Эксперимент на клеточной линии U-937 проводился в соответствии с ГОСТ ИСО 20391 «Биотехнология. Подсчёт клеток». Дизайн исследования соответствовал типовым экспериментальным работам с участием лабораторных животных. В ходе анализа литературы была выбрана оптимальная численность групп экспериментальных животных. В ходе выполнения работы экспериментаторы придерживались Межгосударственного стандарта ГОСТ 32644-2014 («Метод определения острой пероральной токсичности»). Таким образом, можно заключить, что полученные автором результаты достоверны, подкреплены использованием адекватных методов статистического анализа и сопоставлены

с имеющимися в мировой и отечественной литературе сведениями. Выводы и заключение обоснованы и полностью соответствуют поставленным задачам.

Оценка содержания диссертации, её завершенность в целом, замечания по оформлению

Диссертация Мосалева Кирилла Игоревича, изложенная на 157 страницах, состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов исследования, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, а также список литературы. Диссертация содержит 25 таблиц и 43 рисунка. Список литературы представлен 161 источником, преимущественно опубликованных за последние 10 лет, из них 17 на русском языке и 144 на иностранном языке.

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы диссертационного исследования, раскрывает степень её разработанности, формулирует цель и задачи исследования, а также оценивает его научную новизну, описывает теоретическую и практическую значимость работы. Кроме того, во введении сформулированы положения, выносимые на защиту, обосновано соответствие диссертации паспорту научной специальности. Кратко описаны методология и методы диссертационного исследования, оценена степень его достоверности, указан личный вклад в работу, а также информация об апробации результатов исследования.

В первой главе соискатель анализирует литературные данные о структуре и свойствах бетулоновой кислоты, уделяя особое внимание противовоспалительному эффекту и цитотоксическому действию на опухолевые клетки, суммирует сведения о биологической активности линейных фурукумаринов. Автор описывает механизм индукции иммуносупрессии *in vivo* с помощью циклофосфида, обосновывает выбор исследуемых генов и белков,

рассматривая их роль в реализации иммунного ответа и метаболизме ксенобиотиков.

В главе «Материалы и методы» описан способ получения исследуемого соединения, подробно описаны эксперименты *in vivo*: исследование соединения на культуре клеток и на экспериментальных животных. Тщательно описаны разнообразные методы изучения иммуотропных свойств конъюгата бетулоновой кислоты: методы оценки экспрессии целевых генов, определения содержания исследуемых белков, получения гистологических препаратов для световой микроскопии, метод иммунофенотипирования Т-лимфоцитов; биохимический анализ крови, докинг-исследование и статистический анализ.

Результаты диссертационной работы объединяют экспериментальные данные, полученные с привлечением широкого спектра методов. Описано действие исследуемого соединения бетулоновой кислоты на клеточную культуру и организм экспериментальных животных: его влияние на выживаемость клеток U-937, на экспрессию генов цитокинов в перитонеальных клетках, в костном мозге и в печени, на клеточный состав крови, включая модель иммуносупрессии. Проанализированы причины изменения клеточного состава крови: изучены изменения размеров и гистологической структуры тимуса в условиях эксперимента, а также структуры селезенки. Охарактеризовано влияние исследуемого вещества на гистологическую структуру и функции печени, включая экспрессию генов и белков, участвующих в метаболизме ксенобиотиков, и анализ активности печеночных ферментов в крови экспериментальных животных. Определены наиболее вероятные мишени исследуемого соединения *in silico*.

Обсуждая полученные результаты, автор сравнивает их с литературными данными и предлагает гипотезы фенотипических проявлений развития иммунного ответа вследствие наблюдаемых изменений биохимических

параметров. В заключении Кирилл Игоревич делает выводы о биологической активности изучаемого соединения. Выводы корректны, следуют из результатов работы и отвечают поставленным задачам.

Принципиальных замечаний к основным разделам диссертации и изложенным в них положениям нет. В качестве рекомендации для дальнейших исследований представляется целесообразным воспроизвести полученные результаты на более широкой линейке клеточных моделей.

Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

По результатам исследования автором опубликовано 6 печатных работ, в том числе 3 научные статьи в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, а также индексируемых в базе Scopus.

Заключение

Таким образом, диссертационную работу 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, обоснованно можно считать завершённой научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная задача — исследование механизмов иммуномодулирующего действия ковалентного соединения бетулоновой кислоты с фуурокумарином.

По актуальности, научной новизне, практической значимости и реализации результатов диссертационная работа Мосалева Кирилла Игоревича полностью соответствует требованиям п. 9 и п. 14 «Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842, утверждённого постановлением

