

ОТЗЫВ

официального оппонента, д.м.н., профессора Бойко Евгения Рафаиловича на диссертационную работу *Сарапульцева Алексея Петровича* на тему: **«Патофизиологические механизмы развития дистресса и обоснование поиска фармакологических препаратов стресс-лимитирующего действия (теоретико-экспериментальное исследование)»**, представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность избранной темы. Актуальность темы диссертационной работы обусловлена существенной ролью стрессорной реакции в патогенезе множества заболеваний, включая сердечно-сосудистые заболевания и церебральные нарушения. В настоящее время роль стрессорной реакции наиболее интенсивно изучается у пациентов отдельных групп, подверженных чрезвычайно высоким психическими и физическим нагрузкам, таких как военные, диспетчерский и летный состав, спасатели и работники оперативных служб. Значимость обусловленных развитием стрессорной реакции заболеваний у подобных больных неуклонно возрастает, так как возрастают и требования, предъявляемые обществом к данному контингенту. Особенно подчеркивается, что основной системой, на которую оказывает свое влияние стрессорная реакция, является сердечно-сосудистая система; что опосредуется через активацию/торможение альфа- и бета-адренорецепторов миокарда (Krizanova O., et al, 2016).

Несмотря на то, что роль стрессорных механизмов повреждения миокарда хорошо изучена еще в исследованиях Г. Селье (1961), и представления о стрессорных повреждениях сердца получили свое развитие в исследованиях Ф.З. Меерсона (1993), патогенез стрессорного повреждения миокарда, а также его связь с воспалительной реакцией и инфарктом миокарда остаются недостаточно исследованными. Не просматривается в современной медицине и возможность комплексного воздействия на звенья как стрессорной, так и воспалительной реакции. И это при том, что катехоламины модулируют целый ряд иммунных функции организма, таких как пролиферация, продукция цитокинов и антител, цитолитическая активность и миграция иммунокомпетентных клеток, так как адренорецепторы (особенно бета-2) находятся практически на всех клетках,

участвующих в иммунном ответе, и их активация ведет к ингибированию клеточного и стимуляции гуморального иммунитета (Elenkov I.J., 2000; Wong J. & Patterson M. 2007). Также до сих пор не разработаны патогенетически обоснованные методики лечения заболеваний ССЗ, в патогенез которых вовлечена стрессорная и воспалительные реакции, вследствие чего традиционная терапия ОКС не оказывает существенное положительное воздействие.

В целом, исходя из социальной значимости стресс-опосредованных патологий, становится ясным необходимость создания принципиально новых препаратов, воздействующих на патогенетические механизмы развития стрессорной реакции и обладающих одновременно антистрессорным и противовоспалительным действием. В свою очередь, поиск новых типов лекарственных препаратов для лечения данной патологии, в случае успеха, помимо существенной научной и социальной значимости, может привести к формированию практически монопольного рынка для производителя.

Основная роль в диссертационной работе Сарапульцева А.П. отведена системному анализу *in silico* мультитаргетного механизма действия биологически активных соединений ряда замещённых 1,3,4-тиадиазинов. На основании проведенного анализа был выбран ряд биологических мишеней действия данных химических соединений, необходимых для коррекции дистресс-синдрома при инфаркте миокарда. В дальнейшем, было проведено обоснование действия 1,3,4-тиадиазинов с использованием экспериментальных моделей острого инфаркта миокарда и тяжелого стрессорного повреждения (иммобилизационного стресса).

В рамках работы была выявлена способность соединения L-17 из группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов препятствовать развитию трансмурального ИМ и ускорять регенерацию миокарда, что делает целесообразным проведение дальнейших фармакологических и химических исследований, что подчёркивает актуальность работы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации определяется теоретической базой, представленной трудами отечественных и зарубежных ученых, достоверностью материала и адекватностью его математического анализа.

достоверностью материала и адекватностью его математического анализа. Диссертационное исследование имеет логическую последовательность изучения проблемы, цель соответствует теме работы, задачи способствуют достижению цели.

В соответствии с поставленной целью диссертационного исследования было осуществлено обоснование нового метода патогенетической терапии инфаркта миокарда на примере биологически-активных соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов. Для этого автором определен и проанализирован круг потенциальных мишеней, обоснована возможность взаимодействия на них исследуемых веществ, и проведено экспериментальное подтверждение выдвинутой гипотезы. Полученные результаты позволяют считать поставленные задачи диссертационной работы решенными, а цель достигнутой.

Научная новизна. Научная новизна работы не вызывает сомнений, автором впервые был определен набор биологических мишеней, воздействие на которые способно вызвать снижение дистресса и оказывает выраженный кардиопротективный эффект. Автором впервые, с использованием 3D-молекулярного моделирования методом сходства к препаратам-эталонам, а также с использованием докинга, был проведен анализ взаимодействия представителей группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов данными белками-мишенями (такими как серотониновый рецептор, серотониновый транспортер, мускариновый холинорецептор типа 1, дофаминовый рецептор типа 1, $\alpha 1$ -адренорецептор, норадреналиновый транспортер и др.). Взаимодействие химических соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов с белками-мишенями снижало выраженность дистресса и системного воспаления, а на уровне миокарда—уменьшало размеры и предотвращало рецидивирование развившегося инфаркта миокарда.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы заключается в экспериментальном обосновании возможности системного воздействия при инфаркте миокарда, затрагивающего основные звенья воспалительной и стрессорной реакции. Не меньшей значимостью обладают результаты проведенного анализа *insilico*, впервые очертившего спектр биологического действия целого класса перспективных соединений, способных купировать как воспалительный процесс, так и стрессорную реакцию.

Научно-практическая значимость работы заключается в апробации новой методики скрининга и предсказания биологических свойств химических соединений, а также в выявлении желательных молекулярных мишеней 1,3,4-тиадиазинов. Данная информация является основной для планирования дальнейших работ по синтезу новых производных данного класса, в том числе и с заранее предсказанным типом активности. Вследствие этого, полученные автором результаты могут использоваться в работе теоретических и практических кафедр как ВУЗов биологической и медицинской направленности, так и химической.

Вышесказанное позволяет признать высокую теоретическую и практическую значимость представленной работы.

Публикации. По тематике диссертации Сарапульцевым А.П. опубликовано 32 печатных работы, в том числе: 13 – в изданиях, рецензируемых ВАК, из них 8 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в электронных базах данных Scopus и Web of Science; 19 – в других изданиях, из них зарубежных – 8; получено 3 патента РФ на изобретения.

Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора. Все научные положения диссертационной работы обоснованы. Выводы и заключения, сформулированные в работе, полностью соответствуют ее содержанию, результатам проведенного научного анализа, определены достаточной теоретической базой, достоверностью полученного материала, глубоко и аргументированном анализе полученных результатов с применением программ Statistica v. 8.0 for Windows и IBM SPSS Statistics 19. Достоверность результатов и их соответствие использованному материалу исследования подтверждена актом проверки первичной документации, организация исследования одобрена этическим комитетом.

Личный вклад Сарапульцева А.П. состоит в непосредственном участии на всех этапах диссертационного исследования. Планирование научной работы, постановка цели и задач проводились совместно с научными консультантами – Маргаритой Владимировной Черешневой, д.м.н., профессором, и Ириной Георгиевной Даниловой, д.б.н., доцентом. План и программа исследования разработаны лично автором, проведен анализ современной отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме, осуществлена статистическая обработка первичных данных,

интерпретация и анализ полученных результатов, написана и оформлена рукопись диссертации, представлены результаты работы в научных публикациях и в виде докладов на различных конгрессах, конференциях и форумах.

Характеристика работы. Диссертация изложена на 300 страницах машинописного текста, состоит из введения, главы обзора литературы, главы материалы и методов, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов и практических рекомендаций, а также списка литературы, включающего в себя 391 источник, из них 79 отечественных и 312 зарубежных, и приложения. Работа содержит 36 таблиц, 47 рисунков.

Работа поддержана рядом грантов, в том числе РФФИ – «Урал» 07-04-96122 «Экспериментальное изучение принципиально нового подхода к лечению инфаркта миокарда и панкреонекроза с применением препаратов группы тиаминов (соединение «L17»») (2007-2009) и программами Президиума УрО РАН 09-П-4-3001 «Разработка препаратов нового поколения и выявление механизмов их гипометаболического и терапевтического действия» (2009-2011), 2-М-34-2064 «Системные защитные реакции организма при стрессе и их коррекция производными 1,3,4-тиадиазинов» (2011-2013), 15-3-4-27 (2015-2017) «Мишень-ориентированный поиск биологически активных соединений, влияющих на патогенетически важные звенья воспалительной и стрессорной реакций, лежащих в основе стрессорной кардиомиопатии, с использованием технологий компьютерного моделирования, медицинской химии и биологии».

Во «Введении» автор четко обосновывает выбор темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и основные положения, выносимые на защиту, логично изложена актуальность, новизна исследования и практическая значимость работы.

В обзоре литературы представлены основные данные об эпидемиологии, этиологии и патогенезе инфаркта миокарда, рассмотрены понятия стресса и дистресса, взаимосвязь стрессорной реакции с иммунной системой, выделены основные биологические механизмы воздействия стресса на сердечно-сосудистую систему, описано понятие стресса как этиологического фактора инфаркта миокарда, и его влияние на течение заболевания. Особо подробно описаны известные в литературе экспериментальные методы коррекции стрессорного повреждения и

инфаркта миокарда. Выделены причины неудовлетворительных результатов последних, обоснована необходимость комплексного воздействия на патологический процесс при данных нозологиях.

В главе «Материалы и методы исследования» описаны современные высокотехнологичные методы компьютерных расчётов и лабораторных исследований. Дано подробное описание примененной методики компьютерного прогноза биологических свойств химических соединений *in silico*. В целом, автором использован достаточный набор современных методов, которые обеспечили надежность полученных результатов. Результаты расчетов и исследований адекватно обработаны математически с использованием современных статистических программ.

Результаты собственных исследований описаны в трех главах.

В 3 главе приведены результаты компьютерного прогноза биологических свойств соединений ряда 1,3,4-тиадиазина; автором обосновывается мультитаргетность механизма действия соединений.

Глава 4 посвящена экспериментальному исследованию действия 1,3,4-тиадиазинов при остром инфаркте миокарда. Автором подробно описан комплекс гистоморфологических изменений, цитокиновый профиль и данные биохимических исследований при развитии инфаркта миокарда. Проведена оценка интенсивности активации процессов апоптоза под действием тиадиазинов.

Глава 5 посвящена экспериментальному исследованию действия 1,3,4-тиадиазинов на модели нервно-мышечного напряжения (иммобилизационного стресса) у лабораторных животных. Структурные изменения в органах-мишенях стрессорной реакции у экспериментальных животных с подтверждены достаточным количеством гистологического материала и результатами гематологического и биохимических исследований.

Результаты исследований обобщены и обсуждены в главе «Заключение». Описаны основные молекулярные мишени терапевтического действия при инфаркте миокарда, и эффекты от их блокады/активации. Проведен анализ полученных результатов, который позволил автору обосновать необходимость нового комплексного патогенетически подтвержденного подхода к терапии инфаркта миокарда на примере биологически-активных соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов.

Диссертантом сформулированы семь выводов диссертации, которые логически вытекают из полученных автором собственных данных.

Автореферат диссертации полностью отражает материалы диссертационной работы.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» и ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», а также используются научных разработках Института Иммунологии и Физиологии УрО РАН, что свидетельствует о их научной ценности и актуальности.

По ходу рассмотрения работы возник ряд вопросов.

При ознакомлении с содержанием диссертационной работы возникли некоторые вопросы, носящие дискуссионный характер, но требующие разъяснения:

1. Хотелось бы в качестве дискуссии получить пояснения автора по поводу того, что на его взгляд все же является ведущей мишенью для изучаемых соединений – производных 1,3,4-тиадиазина с позиций их клеточной или внутриклеточной локализации.

2. Если автором постулируется мультитаргентность эффекта производных 1,3,4-тиадиазина, то каков на его взгляд механизм взаимодействия с мишенями – а именно каков тип связи – ковалентный или нековалентный возникает в рассматриваемом случае.

3. Автором указывается что «для модели SERT целевая биомишень изменяет свою чувствительность в зависимости от уровней активации других биомишеней, в то время как для модели NET целевая биомишень имеет постоянную чувствительность, которая не зависит от степени активации других биомишеней» – означает ли это различные механизмы взаимодействия с мишенями, и вообще о каких механизмах регуляции как рецепторов (или ферментатов) или тканевых метаболических путях идет собственно речь.

В целом же, указанные замечания носят дискуссионный характер, не носят принципиального характера, и не влияют на общую позитивную оценку диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Диссертационная работа Сарапульцева Алексея Петровича: «Патофизиологические механизмы развития дистресса и обоснование поиска фармакологических препаратов стресс-лимитирующего действия (теоретико-экспериментальное исследование)», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, представляет собой законченную самостоятельно выполненную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение конкретной научной проблемы, важной для специальности 14.03.03 – патологическая физиология, биологические науки заключающейся в теоретико-экспериментальном обосновании нового метода патогенетической терапии инфаркта миокарда за счет коррекции стрессорного повреждения.

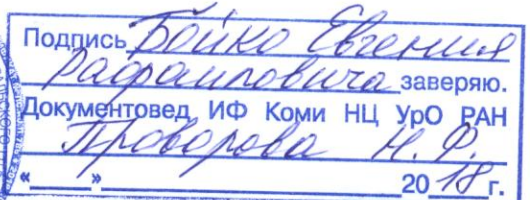
Работа по своей актуальности, научной новизне, научной и практической значимости, объему исследований отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям согласно раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» (в ред. Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изм., утв. 21.04.2016 г. № 335, 02.08.2016 г. № 748) и может быть представлена к защите по специальности 14.03.03 – патологическая физиология, биологические науки. Автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Официальный оппонент,
доктор медицинских наук, профессор,
директор ИФ Коми НЦ УрО РАН

Е.Р. Бойко

Подпись д.м.н., проф. Е.Ф. Бойко удостоверяю
Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный
центр Уральского отделения Российской академии наук»

« 08 » 11 2018



Бойко Евгений Рафаилович, д.м.н., профессор, директор Института физиологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук ФГБУН Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук».

Адрес организации: 167982, ГСП-2, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, 50, тел.: +7(8212) 24-00-85, 20-08-52, office@physiol.komisc.ru