

О Т З Ы В

официального оппонента, д.м.н., профессора Козлова Ивана Генриховича 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 определяется высоким вкладом сердечно-сосудистых заболеваний в структуру смертности населения: 10-13% всех смертей в популяции являются следствием развившейся патологии сердца. При этом смертность от инфаркта миокарда (ИМ), практически не изменившаяся за последние 30 лет, достигает 50% в течение одного месяца, что диктует необходимость поиска и внедрения в практику новых эффективных лекарственных средств и схем их применения.

Несмотря на то, что последние достижения в области сердечно-сосудистой терапии привели к разработке новых стратегий, спасающих миокард и уменьшающих смертность у пациентов с ИМ до начала реперфузии, все они направлены на коррекцию последствий ишемии миокарда и вряд ли принесут кардинальные изменения в поисках способов профилактики и лечения ИМ. Даже после применения манипуляций, направленных на ликвидацию окклюзий эпикардальных коронарных артерий, после купирования окклюзий приток крови к ишемической ткани может оставаться затруднённым, а прогрессирующие воспалительная и стрессорная реакции – оставаться некупируемыми и неконтролируемыми. Более того, в клинике практически отсутствуют методы лечения, улучшающие процессы заживления инфарктированного миокарда, что требует новых подходов, поиска новых методик профилактики и лечения ИБС в целом и ИМ в частности.

В то же время, результаты многочисленных экспериментальных исследований привели к пониманию того, что любые попытки воздействия на отдельные компоненты воспалительной или стрессорной реакции имеют крайне ограниченное влияние на изменение размера ИМ и динамику

его репарации. По-видимому, это связано с тем, что данные каскады основаны на сети молекулярных посредников с плеiotропными эффектами, зависящими от временных переменных, а потому вмешательство, вызывающее ослабление ранних проявлений воспалительного повреждения или стрессорного ответа, может привести даже к ухудшению процессов заживления на более поздних стадиях заболевания.

Вышесказанное свидетельствует о необходимости поиска химических соединений, способных оказывать системное биологическое действие на основные общие звенья воспалительной и стрессорной реакций при ИМ.

Изучение патогенеза развития ИМ позволит усовершенствовать существующие алгоритмы лечения и разработать новые методы и подходы, что еще раз подтверждает актуальность диссертационного исследования. В свою очередь, разработка терапевтических методов купирования воспалительной и стрессорной реакций, требует комплексного воздействия на звенья их патогенеза, что определяет высокую значимость создания новых типов лекарственных средств. Одним из наиболее перспективных путей развития является создание лекарственных средств на основе производных 1,3,4-тиадиазинов – класса веществ, обладающего широчайшим спектром биологического действия, высокой биодоступностью и характеризующихся сравнительно недорогим синтезом.

Исходя из этого, основная роль в диссертационной работе Сарапульцева А.П. отведена системному анализу *in silico* мультитаргетного механизма действия биологически активных соединений ряда замещенных 1,3,4-тиадиазинов на развитие и динамику патоморфологических изменений в экспериментальной модели ИМ. Автором предложен, теоретически обоснован и экспериментально подтвержден круг молекулярных мишеней действия исследуемых соединений на моделях ИМ и иммобилизационного стресса.

Выявленная автором способность соединения L-17 из группы замещенных 1,3,4-тиадиазинов препятствовать развитию трансмурального ИМ и ускорять регенерацию миокарда делает целесообразным проведение полномасштабных исследований и направленного синтеза химических соединений группы замещенных 1,3,4-тиадиазинов с целью выявления со-

единений, обладающих выраженной CHRM1, SERT, NET и D1/D2-ингибирующей активностью для использования последних в качестве базиса для создания принципиально нового класса лекарственных средств с кардиопротективными свойствами.

Все вышеизложенное и определило актуальность и значимость диссертационного исследования Сарапульцева А.П.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Все положения и выводы диссертации, вытекающие из содержания работы, обоснованы достаточным количеством проведенных расчетов и экспериментов. В диссертационной работе использовались современные методы анализа с достаточным объемом проведенных исследований. Диссертационное исследование имеет логическую последовательность изучения проблемы, цель соответствует теме работы, задачи способствуют достижению цели.

В соответствии с поставленной целью выполнено теоретико-биоинформационно-экспериментальное обоснование нового метода патогенетической терапии ИМ на примере биологически-активных соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов. Полученные результаты позволяют считать поставленные задачи решенными, а цель достигнутой.

Научная новизна. Автором впервые, с использованием 3D-молекулярного моделирования методом сходства к препаратам-эталонам, а также с использованием докинга, проведен анализ особенностей взаимодействия представителей группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов с наиболее вероятными белками-мишенями (серотониновый рецептор типа 3A5-HT3A, серотониновый транспортер SERT, мускариновый холинорецептор типа 1 CHRM1, дофаминовый рецептор типа 1 DRD1, дофаминовый рецептор типа 2 DRD2, дофаминовый транспортер DAT, α 1-адренорецептор ADRA1A, норадреналиновый транспортер NET).

Впервые выявлено свойство соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов уменьшать величину и предотвращать рецидивирование ИМ.

Впервые продемонстрировано наличие иммуномодуляторного эффекта соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов, проявляющееся уменьшением нейтрофильной и увеличением макрофагально-лимфоцитарной инфильтрации зоны инфаркта.

Впервые выявлена способность соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов уменьшать выраженность стрессорной реакции.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость работы заключается в экспериментальном обосновании возможности системного воздействия на иммунопатофизиологические формы реакции организма на повреждение, приводящие к развитию воспалительного процесса и стрессорной реакции, что, в свою очередь, позволяет предложить новые подходы к разработке и получению новых лекарственных препаратов, обладающих свойствами регуляторов иммунопатофизиологических процессов при воспалении.

Научно-практическая значимость работы заключается в экспериментальном доказательстве возможности медикаментозного обеспечения кардиопротективного эффекта при ИМ за счет действия на центральные звенья развивающейся стрессорной реакции. Полученные данные о терапевтической эффективности соединения L-17 группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов являются основанием для планирования его дальнейших расширенных доклинических химико-фармацевтических, фармакокинетических и токсикологических исследований.

Полученные автором результаты могут использоваться в практическом преподавании соответствующих разделов на теоретических и кафедрах медицинских, биологических и клинических вузов.

Все это позволяет признать высокую теоретическую и практическую значимость представленной работы.

Публикации. У автора достаточное количество публикаций по теме диссертации – 32, в том числе: 13 – в изданиях, рецензируемых ВАК, из них 8 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в элек-

тронных 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. Достоверность результатов работы, правомочность основных положений и выводов основаны на достаточном числе экспериментальных животных, полноте и широте литературного обзора, использовании современных методов статистической обработки материалов исследования с применением программ Statistica v. 8.0 for Windows и IBM SPSS Statistics 19, глубоком и аргументированном анализе полученных результатов.

Основные положения диссертации представлены на российских и международных конференциях. Работа многократно проходила экспертизу и поддержана грантами РФФИ (2007-2009) и программами Президиума УрО РАН (2009-2017).

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, ЗДН РФ, 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.

Во «Введении» автор четко обосновывает выбор темы, формулирует цель исследования, задачи для ее реализации и положения, выносимые на защиту. Логично изложена актуальность, новизна исследования и практическая значимость работы. В обзоре литературы представлены основные данные по эпидемиологии, этиологии и патогенезу ИМ, 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 ИМ, и его влияние на течение заболевания. Особый акцент сделан на экспериментальных методах терапии ИМ, когда стрессорная и иммунная системы являются мишенями для действия лекарственных средств; обоснована необходимость поиска новых лекарственных средств и очерчены основные современные подходы к последнему.

В материалах и методах представлены современные высокотехнологичные методы компьютерных расчётов и лабораторных исследований. Детально описан компьютерный прогноз *in silico*, включающий в себя методы молекулярной механики и квантовой химии. 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 подтверждена мультитаргетность механизма действия химических соединений группы замещенных 1,3,4-тиадиазинов на примере соединения L-17 по данным системного анализа *in silico*. Экспериментальное подтверждение действия химических соединений группы замещенных 1,3,4-тиадиазинов при ИМ описано в 4 главе. Подробно рассмотрен комплекс гистологических, биохимических и иммунологических изменений при развитии ИМ у экспериментальных животных. Глава 5 посвящена экспериментальному исследованию действия химических соединений группы замещенных 1,3,4-тиадиазинов на модели нервно-мышечного напряжения (иммобилизационного стресса) у лабораторных животных. Структурные изме-

нения 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». Полученные данные позволили автору провести теоретико-экспериментальное обоснование нового метода патогенетической терапии ИМ на примере биологически-активных соединений группы замещённых 1,3,4-тиадиазинов. Семь выводов диссертации четко сформулированы и непосредственно вытекают из собственных данных автора.

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

Автореферат полностью отражает материалы диссертационной работы. Принципиальные замечания по диссертации отсутствуют.

Заключение. Диссертационная работа Сарапульцева Алексея Петровича «Патофизиологические механизмы развития дистресса и обоснование поиска фармакологических препаратов стресс-лимитирующего действия (теоретико-экспериментальное исследование)» представляет собой законченную самостоятельно выполненную квалификационную научно-исследовательскую работу, содержащую решение научной проблемы в области патологической физиологии, заключающееся 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, предъяв-

ляемым 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), а автор диссертации Сарапульцев А.П. заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Зав. лабораторией экспериментальной
и клинической фармакологии НМИЦ
Детской гематологии, онкологии и
иммунологии им. Д. Рогачева
Минздрава РФ, д.м.н., профессор

И.Г. Козлов

Подпись д.м.н., профессора И.Г. Козлова заверяю:

Ученый секретарь НМИЦ
Детской гематологии, онкологии и
иммунологии им. Д. Рогачева
Минздрава РФ, д.м.н., профессор



Е.А. Спиридонова

Козлов Иван Генрихович, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией экспериментальной и клинической фармакологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава России. Адрес организации – 117997, ГСП-7, г. Москва, ул. Саморы Машела, д. 1. Тел. 8(495)-627-24-00. E-mail: immunopharmacology@yandex.ru